



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN N° 9767

BUENOS AIRES 31 AGO 2016

VISTO, el expediente n° 1-47-8405/13-9 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma SIEMENS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado ENZYGNOST® HBsAg 6.0/ ENZIMOINMUNOANÁLISIS PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DEL ANTIGENO DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B (HBsAg) EN SUERO O PLASMA HUMANOS. EL ENSAYO PUEDE REALIZARSE CON LOS SIGUIENTES PROCESADORES DE ELISA: SISTEMA BEP® III, SISTEMA BEP® 2000 O SISTEMA BEP 2000 ADVANCE® Y LOS SISTEMAS QUADRIGA® Y QUADRIGA® BeFree, EL TEST TAMBIÉN PUEDE REALIZARSE EN FORMA NO AUTOMÁTICA.

Que a fs. 131 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

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

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

*[Handwritten signature]*



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN N° 9767

Que se actúa en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE  
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTICULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado ENZYGNOST® HBsAg 6.0/ ENZIMOINMUNOANÁLISIS PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DEL ANTÍGENO DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B (HBsAg) EN SUERO O PLASMA HUMANOS. EL ENSAYO PUEDE REALIZARSE CON LOS SIGUIENTES PROCESADORES DE ELISA: SISTEMA BEP® III, SISTEMA BEP® 2000 O SISTEMA BEP 2000 ADVANCE® Y LOS SISTEMAS QUADRIGA® Y QUADRIGA® BeFree, EL TEST TAMBIÉN PUEDE REALIZARSE EN FORMA NO AUTOMÁTICA que será elaborado por SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS PRODUCTS GmbH. Emil-von-Behring-Straße 76. 35041 Marburg. (ALEMANIA) e importado por SIEMENS S.A. a expendirse en ENVASES POR 192 O [960] DETERMINACIONES, CONTENIENDO: 2 (DOS) O [10 (DIEZ)] PLACAS DE ENSAYO ENZYGNOST® HBsAg 6.0, CONJUGADO 1 (CONJUGATE 1: 2 x 5 ml O [10 x 5 ml]), CONJUGADO 2 (CONJUGATE 2: 2 x 12.5 ml O [10 x 12.5 ml]), CONTROL NEGATIVO (2 x 2.5 ml O [4 x 2.5 ml]) Y CONTROL POSITIVO (2 x 1.5 ml O [3 x 1.5 ml]);cuya composición se detalla a



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN N° 9 7 6 11

fojas 50 con un período de vida útil de 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración , conservado entre 2 y 8°C.

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 61 a 102, 119 a 124, desglosándose las fojas 61 a 63, 70 a 80 y 119 a 120 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA, se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTICULO.5º.- Regístrese; gírese a Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el Certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

Expediente nº: 1-47-8405/13-9.

DISPOSICIÓN N°:

av.

9 7 6 11

Dr. ROBERTO LEBBE  
Subadministrador Nacional  
A.N.M.A.T.



PROYECTO ROTULOS INTERNOS

ORIGINAL

9787  
31 AGO 2016

**SIEMENS**  
**Enzygnost® HBsAg 6.0**  
 1 x **MTP**

LOT 123456  
 EXP 1999 - 12 - 31  
 (CCYY-MM-DD)

Siemens Healthcare  
 Diagnostics Products GmbH  
 Marburg/Germany

IVD  
 CE 0197

OPFD 190 C0001 (123456)

**SIEMENS**  
**Enzygnost® HBsAg 6.0**  
**CONJUGATE 1**

5 mL

LOT  
 EXP  
 IVD  
 CE 0197

43992133

Siemens Healthcare  
 Diagnostics Products GmbH  
 Marburg/Germany

OPFD 190 C0001 (2133)

**SIEMENS**  
**Enzygnost® HBsAg 6.0**  
**CONJUGATE 2**

12.5 mL

LOT  
 EXP  
 IVD  
 CE 0197

43992233

Siemens Healthcare  
 Diagnostics Products GmbH  
 Marburg/Germany

OPFD 190 C0001 (2233)

9761




SIEMENS  
100 mL  
EMPTY VIAL  
Enzygnost® HBsAg 6.0  
CONJUGATE 1

LOT 435748


060197 IVD

43574872



Siemens Healthcare  
Diagnostics Products GmbH  
Marburg/Germany

CPFD 190 C0002 (4872)




SIEMENS  
100 mL  
EMPTY VIAL  
Enzygnost® HBsAg 6.0  
CONJUGATE 2

LOT 435749


060197 IVD

43574872



Siemens Healthcare  
Diagnostics Products GmbH  
Marburg/Germany

CPFD 190 C0002 (4972)



*Handwritten signature*

*Handwritten signature*

9761



123456  
 123456  
 1999-12-31  
 (CCYY-MM-DD)  
 LOT  
 EXP

**SIEMENS**  
 2.5 mL  
 Enzygnost® HBsAg 6.0  
**CONTROL -**  
 2°C 8°C  
 PFEI90C0001V  
 CE0197 IVD

Siemens Healthcare  
 Diagnostics Products GmbH  
 Marburg/Germany  
 ES01

123456  
 123456  
 1999-12-31  
 (CCYY-MM-DD)  
 LOT  
 EXP

**SIEMENS**  
 1.5 mL  
 Enzygnost® HBsAg 6.0  
**CONTROL +**  
 2°C 8°C  
 PFEI90C0001V  
 CE0197 IVD

Siemens Healthcare  
 Diagnostics Products GmbH  
 Marburg/Germany  
 ES01

9761



PROYECTO DE MANUAL DE INSTRUCCIONES

ORIGINAL

# Enzygnost® HBsAg 6.0

La barra de revisión indica una actualización de la versión anterior.

## Uso Previsto

El Enzygnost® HBsAg 6.0 es un análisis inmunoenzimático para la detección cualitativa del antígeno (superficie) de la hepatitis B en plasma o suero humanos. La realización del análisis inmunológico se puede realizar en los procesadores ELISA, los sistemas BEP® III, BEP® 2000 o BEP 2000 Advance®, así como en los sistemas Quadriga® y Quadriga® BeFree. Igualmente es posible una valoración no automatizada del test.

## Resumen y Explicación

La hepatitis vírica de tipo B suele venir acompañada de la aparición del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) en el suero<sup>1,2</sup>. Normalmente, el HBsAg ya puede detectarse en el suero a las 2 ó 3 semanas previas al comienzo de la enfermedad y alcanza un título máximo cuando aparecen los síntomas característicos de ésta (ictericia, cambios en las concentraciones de enzimas específicas del hígado)<sup>3</sup>. A esto le sigue normalmente la eliminación gradual del antígeno. En algunos casos y en un porcentaje desconocido de infecciones de hepatitis B subclínicas, el antígeno puede detectarse en el suero durante años o incluso durante toda la vida del paciente<sup>4</sup>.

Puesto que las transfusiones de sangre que contienen HBsAg a menudo derivan en una infección de hepatitis B de la persona receptora de la transfusión<sup>5</sup>, es de especial importancia en las donaciones de sangre comprobar la existencia del HBsAg como medio para reducir la incidencia de la hepatitis B post-transfusional<sup>6</sup>. Además de la detección de ocho genotipos previamente conocidos del virus de la hepatitis B (de A a H)<sup>7,8</sup>, la detección de formas mutadas del HBsAg ha ganado cada vez mayor importancia a lo largo de los últimos años<sup>9</sup> para impedir la transmisión de mutantes de escape al diagnóstico por vía de transfusión.

Además, la prueba del HBsAg también se utiliza para diagnosticar infecciones agudas o crónicas de la hepatitis B<sup>3</sup>. A pesar de la alta sensibilidad de las pruebas del HBsAg, no se puede descartar por completo el riesgo de transmisión de la hepatitis B por medio de una muestra con HBsAg negativo.

## Principio del método

El Enzygnost® HBsAg 6.0 es un análisis inmunoenzimático basado en un método de dos etapas. En la primera etapa, el HBsAg contenido en la muestra reacciona simultáneamente con los anticuerpos anti-HBs policlonales en los pocillos de las placas de microtitulación y con el conjugado 1 (Anti-HBs/biotina, coloración azul). En la segunda etapa y tras eliminar los reactivos no enlazados, el conjugado 2 (estreptavidina/POD, coloración amarilla) reacciona con el conjugado 1.

Después de eliminar los reactivos no enlazados, se determina la actividad enzimática del conjugado 2 enlazado (reacción cromática azul). La transformación enzimática del cromógeno se interrumpe al añadir la solución de parada POD (reacción cromática amarilla). La intensidad del color es proporcional a la concentración del antígeno de la muestra.

## Reactivos

Símbolos	Contenido del envase comercial			
	Enzygnost® HBsAg 6.0	2 x 96	10 x 96	10 x 96 (Q)
<b>MTP</b>	Placa de ensayo Enzygnost® HBsAg 6.0	2 uds.	10 uds.	10 uds.
<b>CONJUGATE 1</b>	Conjugado 1 (Anti-HBs/biotina)	2 x 5 mL	10 x 5 mL	3 x 15 mL
<b>CONJUGATE 2</b>	Conjugado 2 (estreptavidina/POD)	2 x 12,5 mL	10 x 12,5 mL	2 x 75 mL
<b>CONTROL +</b>	Suero de control HBsAg, positivo	2 x 1,5 mL	3 x 1,5 mL	3 x 1,5 mL
<b>CONTROL -</b>	Suero de control HBsAg, negativo	2 x 2,5 mL	4 x 2,5 mL	3 x 2,5 mL
	Etiqueta "Frasco vacío para conjugado 1"	---	1 ud.	---
	Etiqueta "Frasco vacío para conjugado 2"	---	1 ud.	---
	Instrucciones de uso	1 ud.	1 ud.	1 ud.
	Tabla de valores de códigos de barras	1 ud.	1 ud.	1 ud.
	Bolsa de polietileno	1 ud.	1 ud.	1 ud.

La placa de ensayo, el Conjugado 1, el Conjugado 2, así como el Suero de control HBsAg positivo y HBsAg negativo, deben utilizarse en la combinación dada de números de lote de 6 cifras impresos en el envase e indicados en la tabla adjunta de valores de códigos de barras.

2012-10

46169

OPFMG03C0509(1335)

9767



#### Materiales necesarios pero no suministrados

Reactivos suplementarios para Enzygnost®/TMB (REF) OUVV)

Los reactivos cromógeno TMB y tampón/sustrato TMB solamente se deben usar en la combinación de lotes indicada para el kit de Reactivos suplementarios. Son válidas las denominaciones de lotes de 6 cifras enumeradas en el envase.

#### Composición

**Placa de ensayo Enzygnost® HBsAg 6.0:** Placa de microtitulación recubierta de anticuerpos de oveja contra el HBsAg.

**Conjugado 1 (Anti-HBs/biotina):** Anti-HBs monoclonal (ratón), conjugado con biotina, coloración azul.

Agente de conservación: fenol ( $\leq 1$  g/L)

**Conjugado 2 (estreptavidina/POD):** Estreptavidina, conjugada con peroxidasa (POD), coloración amarilla.

Agente de conservación: fenol ( $\leq 1$  g/L)

**Suero de control HBsAg, negativo:** Suero humano estabilizado, de color verde, absorbancia nominal:  $\leq 0,150$ .

Agente de conservación: fenol ( $\leq 1$  g/L)

**Suero de control HBsAg, positivo:** Suero humano estabilizado: de 0,15 a 0,32 U/mL, valor objetivo: 0,25 U/mL (certificados según material de referencia HBsAg Ad del Paul Ehrlich Institute), color rojo, absorbancia nominal  $\geq 0,7$ .

Agente de conservación: fenol ( $\leq 1$  g/L)

#### Advertencias y Medidas de Seguridad

1. Sólo para ser utilizado en diagnósticos *in-vitro*.
2. El test se desarrolló para la investigación de muestras individuales, no de muestras en pool.
3. ¡PRECAUCIÓN! POSIBLE PELIGRO BIOLÓGICO  
Cada donante o unidad de donación utilizada para la fabricación del suero de control HBsAg, negativo ha sido analizada para detectar la presencia del virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2 (VIH), virus de la hepatitis B (VHB) y virus de la hepatitis C (VHC), utilizando las técnicas aprobadas por la directiva de diagnósticos *in-vitro* de la UE o FDA. Para la elaboración del producto se han utilizado únicamente las donaciones con resultados negativos. Como no hay ninguna prueba que ofrezca la completa seguridad de ausencia de agentes infecciosos, todos los productos obtenidos a partir de material de origen humano, deben ser manipulados con las debidas precauciones.
4. Se aconseja utilizar guantes de protección durante el desarrollo del test. Siga las recomendaciones del fabricante sobre la compatibilidad entre guantes y materiales expuestos.
5. Para la eliminación del material infeccioso sólido, se recomienda colocarlo en el autoclave por lo menos 1 hora a 121 °C. Las soluciones aspiradas se deben recoger en dos recipientes conectados uno con el otro. Los recipientes deben contener un medio de desinfección apropiado para inactivar patógenos humanos. Deben respetarse las concentraciones y los tiempos de reacción especificados por el fabricante.
6. El tampón/sustrato TMB, la solución de cromógeno diluida y la solución de parada POD no deben entrar en contacto con iones de metales pesados o sustancias oxidantes (no utilice pipetas que contengan partes metálicas que deban estar en contacto con el líquido). No efectuar la reacción del sustrato cerca de desinfectantes que contengan hipoclorito. Una coloración azul espontánea en la solución de cromógeno diluido, antes de colocarla en la placa de ensayo, indica una contaminación de la misma. En este caso, prepare una nueva solución en un recipiente limpio. Evite el contacto cutáneo con las soluciones arriba mencionadas.

#### Preparación de Reactivos

Antes de empezar con la prueba, todos los reactivos y las muestras tendrán que alcanzar una temperatura de 15 a 25 °C. Durante este proceso, no retire las placas de ensayo del envase que las contiene. Los elementos de la placa de ensayo no necesarios para el desarrollo del test deben ser retirados del soporte y almacenados en la bolsa de polietileno para su uso posterior (véase la Tabla 1). Cuando haya que mezclar los reactivos o las soluciones de trabajo, habrá que evitar que se forme espuma.

Para evitar el cambio de jeringa continuo en el Sistema BEP® III, cuando se trabaja con una serie grande de muestras, se recomienda el equipo 10 x 96 (Q). Cuando se trabaja con la variante 10 x 96, puede ser de gran utilidad mezclar varias soluciones de conjugado en un frasco grande (p. ej., excedente, un frasco vacío sobrante de Solución de uso de cromógeno del equipo de Reactivos adicionales (REF) OUVV 17), marcarlo con

OPFMG03C0509(1335)

47/69

2012-10



la etiqueta "FRASCO DE CONIUGADO VACÍO..." para el Conjugado 1 (Anti-HBs/biotina) o el Conjugado 2 (estreptavidina/POD), y colocarlo en la rueda de reactivos.

Para cada placa de ensayo, diluir 20 mL de la Solución de lavado POD del equipo de Reactivos suplementarios para Enzygnost®/TMB con agua destilada o desionizada hasta obtener 400 mL.

Para cada placa de ensayo, diluir 1 mL de Cromógeno TMB con 10 mL de Tampón/Sustrato TMB del equipo de Reactivos suplementarios para Enzygnost®/TMB, utilizando para ello el frasco de plástico vacío incluido en la caja (Solución de cromógeno diluida). Manténgase protegida de la luz. Después de su uso, enjuagar cuidadosamente el frasco con agua destilada o desionizada.

También está permitido verter todo el contenido del frasco de cromógeno TMB junto con el frasco de Tampón/Sustrato TMB en la botella vacía.

Cuando utilice los Reactivos suplementarios para Enzygnost®/TMB (REF OUVF 27), debe transferir todo el contenido del vial de Cromógeno TMB a la botella Tampón/Sustrato TMB etiquetada con código de barras.

#### Estabilidad y Condiciones de Almacenaje

Todos los componentes del kit Enzygnost® HBsAg 6.0 aún cerrados, conservados a la temperatura indicada, son utilizables hasta las fechas de caducidad dadas en las etiquetas. Para consultar los datos referentes a la estabilidad y al almacenamiento de los reactivos abiertos, remítase a la Tabla 1. La Tabla 2 contiene información sobre la estabilidad on-board de reactivos en los distintos sistemas de analizadores.

#### Equipo necesario

BEP® III:	Para la realización automática del test después de distribuir las muestras, así como para la valoración.
BEP® 2000/BEP 2000 Advance®:	Para el procesamiento completamente automático y la valoración de la prueba.
Quadriga®:	Para la realización y valoración completamente automáticas del test en combinación con el BEP® III.
Pipetas:	Pipetas de émbolo con volúmenes fijos o variables, o bien pipetas multicanal o de un canal con volúmenes ajustables
Para la realización no automática del test se necesita adicionalmente:	
Incubadora:	Baño termostático cubierto (37 ± 1 °C) o método de incubación similar.
Equipo de lavado:	Instrumento de lavado para las placas de microtitulación.
Fotómetro:	Fotómetro apto para placas de microtitulación, longitud de onda de medición 450 nm, longitud de onda de referencia 650 nm (si procede, entre 615 nm y 690 nm). Para medidas SURE, se requiere también una longitud de onda de 405 nm.

Todos los instrumentos utilizados para el desarrollo del test deben estar validados.

#### Muestras

Para la investigación se pueden utilizar muestras aisladas (sueros humanos o plasma CPDA/EDTA/heparinizado/citrato) que hayan sido tomadas según las técnicas estándar de laboratorio. Las muestras de plasmas heparinizado, CPDA y citrato no deben almacenarse más de 3 días a una temperatura de entre 2 a 8 °C, mientras que el suero y el plasma EDTA pueden utilizarse hasta 8 días con las mismas condiciones de almacenamiento.

Si las muestras deben almacenarse durante más tiempo, deberán congelarse.

#### Procedimiento

##### Procedimiento no automático

1. Esquema de distribución: El número necesario de pocillos de la placa de ensayo viene determinado por el número de muestras más el número de determinaciones (n = 5) para suero de control HBsAg, negativo y positivo.
2. Distribución de las muestras: Dosificar 100 µL de suero de control HBsAg, negativo en cada uno de los 3 pocillos (A1-C1), 100 µL de suero de control HBsAg, positivo en un pocillo (D1) y 100 µL de muestra sin diluir en cada uno de los siguientes pocillos. Al final de la serie o de la placa de ensayo, pipetear una vez más 100 µL de suero de control HBsAg, positivo.

Importante: No está permitido pipetear primero el suero de control HBsAg, positivo en los pocillos al principio y al final de la serie de muestras y luego poner las muestras intermedias.

Al hacerlo, cada muestra debe pipetearse con su propia punta. Las etapas de pipeteo no deben durar más de 30 minutos por placa. Finalmente, cubrir la placa con la lámina adhesiva y colocarla inmediatamente en el incubador.

**Esquema de pipeteo opcional:** Dosificar 100 µL de suero de control HBsAg, negativo en cada uno de los 3 pocillos (A1-C1), 100 µL de suero de control HBsAg, positivo en cada uno de los 2 pocillos (D1-E1) y 100 µL de muestra sin diluir en cada uno de los siguientes pocillos.

**Opcional:**

Con un sencillo control visual puede verificarse si el pipeteo de los controles y las muestras se está realizando correctamente. La diferencia entre el suero de control HBsAg, negativo (verde), el suero de control HBsAg, positivo (rojo), la muestra y el pocillo vacío puede establecerse claramente. El pipeteo de los controles y las muestras también puede controlarse de forma cualitativa por medición fotométrica a 405 nm frente a 650 nm (la llamada función SURE).

Para una medición SURE, se realiza una medición fotométrica a 405 nm y 650 nm usando la placa de ensayo cargada de controles y muestras. El valor SURE ( $A_{SURE}$ ) se calcula de la siguiente manera:

$$A_{SURE} = A_{405\text{ nm}} - A_{650\text{ nm}}$$

Si  $A_{SURE} \geq 0,100$ , el pocillo en cuestión no estaba completamente vacío. Si  $A_{SURE} < 0,100$ , es dudoso si la muestra o el control en cuestión se han pipeteado correctamente en el pocillo en cuestión.

Inmediatamente después de que se complete la dispensación de las muestras o la medición SURE, se dispensará el conjugado 1.

3. **Distribución del conjugado 1:** Pipetear 25 µL del conjugado 1 (Anti-HBs/biotina) en cada pocillo. A continuación, cubrir con lámina adhesiva y colocar la placa en el incubador justo después de concluir la etapa de dispensación del conjugado.
  4. **Incubación:** Incubar durante  $60 \pm 2$  minutos a  $37 \pm 1$  °C; luego pase inmediatamente a la fase de lavado.
  5. **Lavado:** Retirar la lámina adhesiva, aspirar todos los pocillos y lavar 4 veces con aprox. 0,3 mL de solución de lavado y un tiempo de reposo de 10 segundos entre cada ciclo. Tras concluir los ciclos de lavado, proceder inmediatamente con la etapa de dispensación del conjugado 2 para evitar que los pocillos se sequen.
  6. **Distribución del conjugado 2:** Dispensar 100 µL del conjugado 2 (estreptavidina/POD) en cada pocillo. A continuación, cubrir con lámina adhesiva y colocar la placa en el incubador justo después de concluir la etapa de dispensación del conjugado.
  7. **Incubación:** Incubar durante  $30 \pm 2$  minutos a  $37 \pm 1$  °C; luego pase inmediatamente a la fase de lavado.
  8. **Lavado:** Retirar la lámina adhesiva, aspirar todos los pocillos y lavar 4 veces con aprox. 0,3 mL de solución de lavado y un tiempo de reposo de 10 segundos entre cada ciclo. Tras concluir los ciclos de lavado, proceder inmediatamente con la etapa de dispensación del sustrato para evitar que los pocillos se sequen.
  9. **Distribución del sustrato:** Pipetear en cada pocillo 75 µL de solución de cromógeno diluida y cubrir la placa de microtitulación con una nueva lámina adhesiva.
  10. **Incubación del sustrato:** Incubar protegiéndolo de la luz entre 15 a 25 °C durante  $30 \pm 2$  minutos.
  11. **Reacción de parada:** Retirar la lámina adhesiva. Añadir 75 µL de solución de parada POD a cada pocillo, respetando el mismo ritmo que para la distribución del sustrato.
  12. **Medición:** Leer la placa de ensayo a 450 nm en el plazo de una hora. Como longitud de onda de referencia se aconseja 650 nm o, cuando corresponda, una longitud de onda entre 615 y 690 nm.
- Si se requiere poner a cero el fotómetro, deberá utilizarse para ello la solución de parada POD. Seguir las instrucciones del fabricante.

**Procedimiento con el sistema BEP® III**

Para la realización del test en el BEP® III, las placas de ensayo se deben preparar hasta la distribución de las muestras (punto 1 y 2 del "Procedimiento no automático") inclusive. Hay que asegurarse de que las placas de ensayo parcialmente cargadas se completan hasta al menos la mitad añadiendo "tiras llenas de agua" (6 tiras). Inmediatamente después, colocar en el BEP® III las placas de pruebas sin cubrir, es decir, sin la lámina adhesiva.

El instrumento realizará todas las etapas de procesamiento subsiguientes de forma completamente automática (véase el manual de funcionamiento del BEP® III). Los tiempos de incubación dados en el software del BEP® III pueden diferir de los indicados en el apartado "Procedimiento no automático del test" debido a razones técnicas (velocidad del aparato), pero están validados para Enzygnost® en el sistema BEP® III.

**Procedimiento para sistemas completamente automáticos (BEP® 2000 y Quadriga®)**

El aparato distribuye las muestras y realiza los siguientes pasos del test de forma completamente automática (véase el correspondiente manual de funcionamiento). Hay que asegurarse de que las placas de ensayo parcialmente cargadas se completan hasta al menos la mitad añadiendo "tiras llenas de agua" (6 tiras).

Debido a razones técnicas (velocidad del aparato), los ajustes de los tiempos de incubación del software de estos analizadores pueden diferir de los tiempos especificados en el apartado "Procedimiento no automático", pero han sido validados para el analizador y el kit.

#### Control de Calidad Interno

##### Criterios de validación

Las validaciones se realizaron automáticamente con el BEP® III, BEP® 2000 y los sistemas Quadriga®. Consulte el manual de funcionamiento correspondiente. Los valores individuales de absorbancia del suero de control HBsAg, negativo se usan para calcular el valor medio si se cumplen estos dos criterios:

Criterio A:  $-0,010 \leq A_{neg} \leq 0,150$

Criterio B:  $A_{neg} < \text{valor límite}$

*Al utilizar los analizadores, de los tres valores de absorbancia correspondientes al suero de control HBsAg, negativo se podrá eliminar como máximo un valor que no cumpla con los dos criterios. De forma alternativa, cuando se utilice el sistema BEP® 2000 completamente automático, podrá eliminarse un valor que no cumpla con el criterio B si se cumple el siguiente supuesto:*

*Valor límite  $< A_{neg} \leq 0,150$*

*A causa de las exigencias de seguridad de pipeteo durante la dispensación manual de los controles y las muestras, esta última opción no está disponible para el sistema BEP® III; la ejecución de la prueba no será válida.*

Los dos valores individuales de absorbancia del suero de control HBsAg, positivo deben cumplir la siguiente especificación:

$A_{pos} \geq 0,700$

Si no se cumple esta especificación, deberá repetirse la prueba

#### Resultados

Las evaluaciones se realizaron automáticamente con el BEP® III, BEP® 2000 y los sistemas Quadriga®. Consulte el manual de funcionamiento correspondiente. Deben tenerse en cuenta los siguientes apartados cuando se realicen mediciones sin ayuda del programa informático.

Para calcular el valor límite, habrá que usar la media de los valores de absorbancia válidos correspondientes al suero de control HBsAg, negativo y sumarle 0,050.

$\bar{A}_{neg} + 0,050 = \text{valor límite}$

De acuerdo con los criterios del test, las muestras se van a clasificar de la siguiente manera:

HBsAg negativo:  $A_{Muestra} < \text{valor límite}$

HBsAg reactivo:  $A_{Muestra} \geq \text{valor límite}$

También se puede realizar una interpretación de los resultados de la prueba hallando el cociente de  $A_{Muestra}$  y el valor límite (relación):

$$\text{Relación} = \frac{A_{Muestra}}{\text{valor límite}}$$

Cuando se utilizan los sistemas BEP® III, BEP® 2000 y Quadriga®, el software del analizador calcula automáticamente la relación. Este método permite normalizar y comparar entre sí los resultados de diferentes series analíticas. El resultado de la prueba debe interpretarse de la siguiente manera:

HBsAg negativo: Relación  $< 1$

HBsAg reactivo: Relación  $\geq 1$

Las muestras con valores de absorbancia iguales o superiores al valor límite o un cociente igual o superior a 1,0 deben repetirse en una doble determinación. Si los resultados de las dos determinaciones presentan valores de absorbancia inferiores al valor límite o cocientes inferiores a 1,0, la muestra deberá considerarse como antígeno negativa, de acuerdo con los criterios de la prueba.

Una muestra se considera como reactiva si después de la repetición al menos uno de los dos valores de absorbancia es igual o superior al valor límite o los cocientes son iguales o superiores a 1,0. Todas las muestras reactivas deben aclararse según un método de confirmación reconocido.

#### Limitaciones del Procedimiento

1. Los anticoagulantes como heparina, EDTA, citrato y CPDA no influyen sobre los resultados del test.
2. Las muestras lipémicas no alteran el desarrollo de la prueba

3. Al analizar muestras ictericas (concentraciones analizadas: hasta 600 mg/L de bilirrubina), no se ha observado alteración alguna de los resultados de la prueba.
4. Se investigaron muestras de embarazadas y muestras que contenían las siguientes sustancias que pueden alterar los resultados obtenidos: ANA, HAMA, así como anticuerpos contra el VIH, VHC, CMV, HAV, VEB, VHS y parvovirus. Estas muestras no alteraron los resultados de la prueba.
5. Las muestras tratadas por calor (30 minutos, 56 °C) pueden presentar un incremento de la reactividad no específica en el Enzygnost® HBsAg 6.0.
6. Una concentración de hemoglobina aumentada (hasta una concentración de 6 g/L) no causó alteraciones de los resultados de análisis.
7. Un contenido de biotina elevado (controlado hasta 2,6 µg/L) en las muestras no afecta a los resultados de análisis.
8. Las coinfecciones con VIH, VHC, CMV, VHD, VEB, VVZ, VHA, VHS, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum* (sífilis) y parvovirus no afectan al resultado de la prueba.
9. El análisis de muestras de sangre procedentes de personas fallecidas no forma parte del uso previsto para el Enzygnost® HBsAg 6.0 y no están aprobadas por Siemens Healthcare Diagnostics.
10. No se deben utilizar sueros que no estén completamente coagulados ni muestras contaminadas microbiológicamente. Todos los componentes particulares de la muestra (p. ej., coágulos de fibrina, eritrocitos) deberán eliminarse antes de realizar la prueba.
11. En muestras descongeladas se debe tener en cuenta que el material se encuentre bien homogeneizado.
12. Las muestras previamente congeladas y las muestras que han sido almacenadas durante largos períodos encima del coágulo de sangre presentan una reactividad no específica elevada en el Enzygnost® HBsAg 6.0.
13. Los factores reumatoideos de la muestra pueden provocar reactividad no específica elevada en el Enzygnost® HBsAg 6.0, aunque no afectan de forma negativa a la sensibilidad de la prueba.
14. En caso de que se realice una prueba manual, no toque el borde del pocillo con la punta de la pipeta durante la dispensación del conjugado para evitar errores en los resultados reactivos.
15. La placa de ensayo debe permanecer en una posición fija durante la incubación (p.ej., colocada en un dispositivo protegido de ayuda a la flotación o en un baño termostático sin circulación); los pocillos de la placa deben estar en contacto con el agua termostática. Si se utilizan agentes de conservación para evitar la contaminación microbiana del agua, hay que tener la precaución de que ni la superficie de la placa de ensayo ni los pocillos entren en contacto con este líquido, pues podría provocar reacciones no específicas.
16. En muestras altamente reactivas se puede presentar una precipitación del colorante al agregar la solución de parada. Esto no interfiere con la evaluación fotométrica.
17. Los sueros de control son fabricados utilizando sueros humanos naturales. Por tanto, puede aparecer turbidez, pero ésta no influirá en los resultados de la prueba.
18. Si se debe realizar una dilución de los estándares para determinar la sensibilidad analítica de la prueba, sólo deberá usarse el suero de control HBsAg, negativo incluido en el kit como medio de dilución.
19. Si se ha donado la sangre poco después de la vacunación contra la hepatitis B, la alta sensibilidad de la prueba puede provocar resultados que pueden interpretarse como reactivos. Una vacunación previa contra la hepatitis B puede provocar un HBsAg transitorio en la muestra, ya que la vacuna contiene HBsAg como inmunógeno protector que, en vista de la alta sensibilidad del Enzygnost® HBsAg 6.0, continúa detectable durante cierto tiempo después de la vacunación.
20. Siemens ha validado el uso de los reactivos en varios analizadores para optimizar el rendimiento del producto y cumplir con las especificaciones del mismo. Las modificaciones definidas por el usuario no están garantizadas por Siemens dado que pueden afectar al rendimiento del sistema y a los resultados del ensayo. Es responsabilidad del usuario validar las modificaciones realizadas a estas instrucciones o el uso de los reactivos en analizadores distintos a los incluidos en las hojas de aplicaciones de Siemens o en estas instrucciones de uso.
21. Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

### Características Específicas del Test

#### Sensibilidad y Especificidad

Los resultados de los estudios de sensibilidad y especificidad aparecen en las Tablas 3 y 4 (anexo).

La sensibilidad diagnóstica se determinó utilizando 607 muestras positivas. Todas las muestras fueron reconocidas como positivas.

OPFMG03C0509(1335)

51/69

2012-10

La sensibilidad analítica del ensayo en relación a los materiales de referencia de PEI HBsAg, subtipo Ad y HBsAg, subtipo Ay estaba por debajo de 0,020 UI/mL para cada valor estándar. Utilizando el Segundo Estándar Internacional para el HBsAg (HBsAg subtipo adw2, genotipo A; número de código NIBSC-00/588) de la OMS<sup>10</sup>, la sensibilidad analítica de Enzygnost® HBsAg 6.0 era inferior a 0,032 UI/mL.

La reactividad de la prueba para muestras de seroconversión se investigó utilizando 39 seroconversiones. Se demostró que Enzygnost® HBsAg 6.0 mostraba una sensibilidad para detectar seroconversiones comparable o mejor que otras pruebas similares. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que muestras aisladas escapen a la detección cuando la prueba se realiza a gran escala.

Para determinar la especificidad, se investigaron 28253 sueros HBsAg negativo en 2 centros de evaluación y se halló una especificidad del 99,89 % (análisis inicial) y 99,91 % después de repetir la prueba (véase la Tabla 4). Para determinar la especificidad en plasma, se investigaron 11369 plasmas EDTA en 3 centros de evaluación y se halló una especificidad del 99,79 % (análisis inicial) y 99,84 % después de repetir la prueba (véase la Tabla 4). Las condiciones de centrifugación utilizadas en los distintos centros de pruebas también aparecen en la Tabla 4 a modo de referencia. En función del colectivo de muestras, el procedimiento de la prueba y otros factores, pueden obtenerse distintos valores que, sin embargo, deben cumplir las Especificaciones Técnicas Comunes (CTS, por sus siglas en inglés).

De acuerdo con el estado actual de los conocimientos, un resultado positivo no puede determinar con seguridad que exista en la sangre HBsAg infeccioso, así como tampoco un resultado negativo excluye totalmente la existencia de HBsAg. Por tanto, todas las muestras reactivas deben aclararse siguiendo un método de confirmación reconocido<sup>11,12</sup>.

#### Detección de mutantes para HBsAg

Durante los estudios de validación se analizaron 272 mutantes para HBsAg en diferentes zonas con Enzygnost® HBsAg 6.0. El conjunto de muestras estaba constituido por muestras naturales de pacientes (n = 148) y muestras de HBsAg recombinantes (n = 124). Las variantes mutadas del HBsAg incluían tanto sustituciones de un solo aminoácido, frente a la secuencia del tipo salvaje (por ej., G145R o T123 N), como múltiples sustituciones, hasta 25 en los aminoácidos 100 - 160 del HBsAg (sHBsAg).

Todas la variantes del AgsHB estudiadas se detectaron con Enzygnost® HBsAg 6.0.

#### Precisión

Los resultados de precisión intrafíter ensayo figuran en la Tabla 5 (en el anexo). Los resultados tienen una función meramente ilustrativa. Dependiendo del procedimiento del test es posible encontrar valores que se desvíen de éstos.

Enzygnost®, BEP®, BEP 2000 Advance® y Quadriga® son marcas comerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.



Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76  
35041 Marburg/Germany  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

2012-10

52/69

CE 0197

OPFMG03C0509(1335)

9787



Tabla 1 Estabilidad y almacenaje

Material/reactivo	Estado	Almacenaje	Estabilidad*
Placa de ensayo Enzygnost® HBsAg 6.0 elementos sobrantes	abierto	entre 2-8 °C entre 15-25 °C en envase con cápsulas deshidratantes	4 semanas 6 x 6 hasta 8 horas <sup>a</sup>
Conjugado 1 (Anti-HBs/biotina)	abierto	entre 2-8 °C entre 15-25 °C	4 semanas 6 x 6 hasta 8 horas <sup>a</sup>
Conjugado 2 (estreptavidina/POD)	abierto	entre 2-8 °C entre 15-25 °C	4 semanas 6 x 6 hasta 8 horas <sup>a</sup>
Suero de control HBsAg, negativo	abierto	entre 2-8 °C entre 15-25 °C ≤ -15 °C	4 semanas 6 x 6 hasta 8 horas <sup>a</sup> 3 meses
Suero de control HBsAg, positivo	abierto	entre 2-8 °C entre 15-25 °C ≤ -15 °C	4 semanas 6 x 6 hasta 8 horas <sup>a</sup> 3 meses
Cromógeno TMB	abierto	entre 2-8 °C	Fecha de caducidad
Tampón/sustrato TMB	abierto	entre 2-8 °C	Fecha de caducidad
Solución de cromógeno diluida	diluido 1+10	entre 2-8 °C entre 15-25 °C Recipiente cerrado, protegido de la luz	5 días 8 horas
Solución de lavado POD	abierto diluido 1+19	entre 2-8 °C entre 2-8 °C 18-25 °C	fecha de caducidad 1 semana 1 día
Solución de parada POD	abierto	entre 2-8 °C	Fecha de caducidad

\* En ningún caso más allá de la fecha de caducidad.

<sup>a</sup> Número de veces que el reactivo permanece abierto en la mesa de laboratorio (en un plazo de 4 semanas), cerrado entretanto a una temperatura de entre 2-8 °C.

Tabla 2 Detalles sobre la estabilidad en el instrumento

Material/reactivo	Almacenaje	Estabilidad*
Conjugado 1 (Anti-HBs/biotina)	BEP® III, Quadriga®	48 horas sin abrir (mezclado en botella de plástico o recipiente original)
	BEP® 2000	24 horas en recipiente original
	BEP® III, BEP® 2000, Quadriga®	6 x 6 hasta 8 horas <sup>b</sup>
Conjugado 2 (estreptavidina/POD)	BEP® III, Quadriga®	48 horas sin abrir (mezclado en botella de plástico o recipiente original)
	BEP® 2000	24 horas en recipiente original
	BEP® III, BEP® 2000, Quadriga®	6 x 6 hasta 8 horas <sup>b</sup>

OPFMG03C0509(1335)

53/69

2012-10

Material/reactivo	Almacenaje	Estabilidad*
Suero de control HBsAg, negativo	BEP® 2000, Quadriga®	6 x 6 hasta 8 horas <sup>c</sup>
Suero de control HBsAg, positivo	BEP® 2000, Quadriga®	6 x 6 hasta 8 horas <sup>c</sup>

- b. Número de veces que el reactivo permanece abierto en los sistemas BEP® III, BEP® 2000 o los sistemas Quadriga® (en un plazo de 4 semanas después de abrirlo por primera vez), cerrado y almacenado a una temperatura de entre 2-8 °C.
- c. Número de veces que el reactivo permanece abierto en los sistemas BEP® 2000 o en el área de la pipeta de los sistemas Quadriga® (en un plazo de 4 semanas después de abrirlo por primera vez), cerrado y almacenado a una temperatura de entre 2-8 °C.

### Tabla 3 Sensibilidad

Al evaluar la sensibilidad, se estudiaron 607 muestras HBsAg positivas y se obtuvieron los siguientes resultados:

Colectivo de muestras	Número de muestras	Muestras reactivas
Muestras HBsAg positivas, genotipo A	31	31
Muestras HBsAg positivas, genotipo B	8	8
Muestras HBsAg positivas, genotipo C	12	12
Muestras HBsAg positivas, genotipo D	74	74
Muestras HBsAg positivas, genotipo E	14	14
Muestras HBsAg positivas, genotipo F	12	12
Muestras HBsAg positivas, genotipo G	4	4
Muestras HBsAg positivas, genotipo H	1	1

### Tabla 4 Especificidad

Para determinar la especificidad, se encontraron los siguientes datos del estudio de muestras HBsAg negativas:

Centro	Tipo de muestras	Número de muestras	Condiciones de centrifugación	Muestras reactivas iniciales (especificidad en %)	Muestras reactivas de la repetición (especificidad en %)
1	suero	22.802	4 minutos a 3.500 x g	27 (99,88 %)	22 (99,90 %)
2	suero	5.451	10 minutos a 3.000 x g	3 (99,94 %)	3 (99,94 %)
3	Plasma EDTA	5.188	4 minutos a 3.500 x g	13 (99,75 %)	11 (99,79 %)
4	Plasma EDTA	5.101	4 minutos a 3.200 rpm	11 (99,78 %)	7 (99,86 %)
5	Plasma EDTA	1.080	10 minutos a 2.500 x g	0 (100 %)	0 (100 %)

### Tabla 5 Precisión

Se han analizado cinco muestras con distintas concentraciones de HBsAg para determinar el coeficiente de variación inter/intra-ensayo (CV) (réplicas por octuplicado en 5 tandas). Los cálculos se realizaron mediante un análisis de varianza. A continuación, se resumen los resultados obtenidos de dos estudios en el BEP® III:

Estudio 1

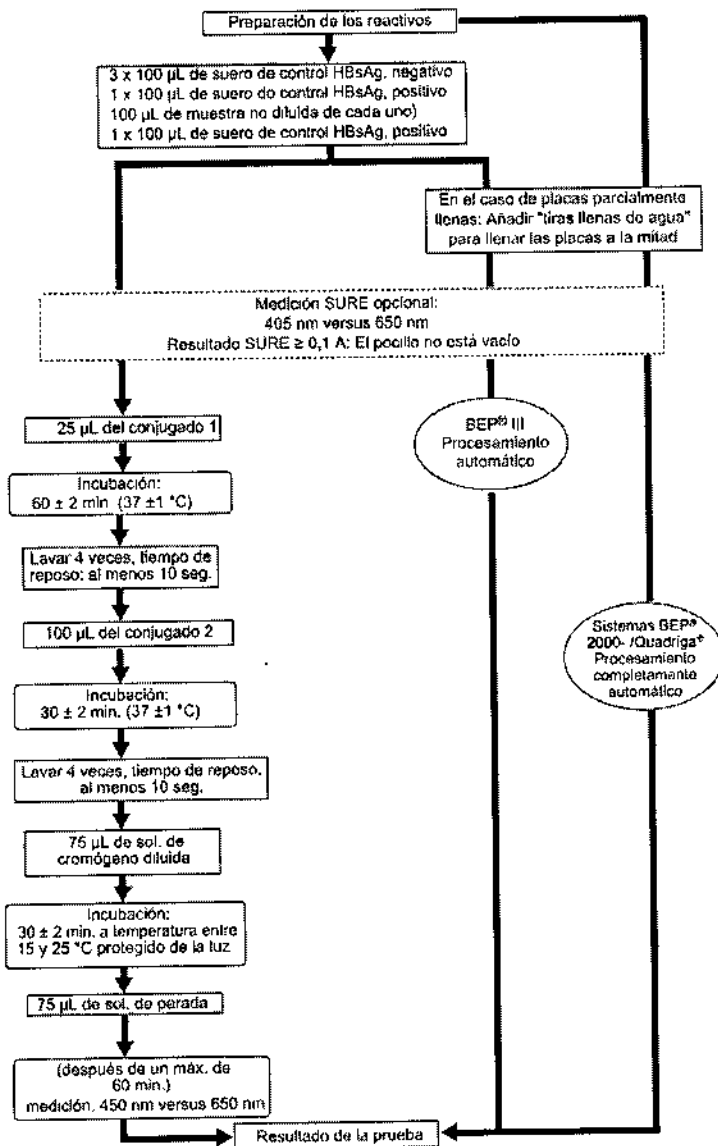
Muestra	Estado	Valor de absorbancia media (A)	CV Intraensayo (%)	CV interensayo (%)
FP1	Negativo	0,017	10,9	39,8
FP3	Positivo en el límite	0,139	6,1	13,0
FP4	Positivo (intervalo inferior)	0,614	4,7	10,2
FP5	Positivo (Intervalo intermedio)	1,308	5,0	9,9
FP6	Positivo (intervalo superior)	1,992	2,9	6,3

Estudio 2

Muestra	Estado	Valor de absorbancia media (A)	CV intra-ensayo (%)	CV inter-ensayo (%)
FP1	Negativo	0,019	16,9	2,3
FP3	Positivo en el límite	0,186	3,0	6,7
FP4	Positivo (intervalo inferior)	0,697	3,7	6,3
FP5	Positivo (intervalo intermedio)	1,411	4,1	6,7
FP6	Positivo (intervalo superior)	2,121	2,7	5,5



Tabla 6 Procedimiento



9761



PROYECTO DE ROTULOS EXTERNOS

ORIGINAL

# SIEMENS

## Enzygnost® HBsAg 6.0

Σ 2 x 96

IVD



LOT

XXXX




XXXX



### CONTENTS

- 2 x
- 2 x 5 mL
- 2 x 12.5 mL
- 2 x 2.5 mL
- 2 x 1.5 mL

- MTP
- CONJUGATE 1
- CONJUGATE 2
- CONTROL -
- CONTROL +

 Siemens Healthcare  
 Diagnostics Products GmbH  
 35041 Marburg/Germany  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

Ignacio O. Fresa  
 M.P. 62/3  
 Director Técnico  
 Siemens S.A.

### Ver instrucciones de uso

Importado por: SIEMENS S.A. Depósito: Calle 122(ex Gral Roca) 4785/4817, Localidad de Villa Ballester, Partido de San Martín Prov de Buenos Aires. Legajo N° 1074  
 Director Técnico: Ignacio Oscar Fresa  
 Autorizado por ANMAT  
 Certificado N°



# SIEMENS

## Enzygnost<sup>®</sup> HBsAg 6.0

Σ 10 x 96

IVD



LOT

XXXX




XXXX



### CONTENTS

10 x	<b>MTP</b>
10 x 5 mL	<b>CONJUGATE 1</b>
10 x 12.5 mL	<b>CONJUGATE 2</b>
4 x 2.5 mL	<b>CONTROL -</b>
3 x 1.5 mL	<b>CONTROL +</b>


**Siemens Healthcare**  
**Diagnostics Products GmbH**  
 35041 Marburg/Germany  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

#### Ver instrucciones de uso

Importado por: SIEMENS S.A. Depósito: Calle 122(ex Gral Roca) 4785/4817, Localidad de Villa Ballester, Partido de San Martín Prov de Buenos Aires. Legajo N° 1074

Director Técnico: Ignacio Oscar Fresa

Autorizado por ANMAT

Certificado N°



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T

CERTIFICADO DE AUTORIZACION DE VENTA  
DE PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº:1-47-8405/13-9

Se autoriza a la firma SIEMENS S.A. a importar y comercializar el Producto para Diagnóstico de uso "in vitro" denominado ENZYGNOST® HBsAg 6.0/ ENZIMOINMUNOANÁLISIS PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DEL ANTIGENO DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B (HBsAg) EN SUERO O PLASMA HUMANOS. EL ENSAYO PUEDE REALIZARSE CON LOS SIGUIENTES PROCESADORES DE ELISA: SISTEMA BEP® III, SISTEMA BEP® 2000 O SISTEMA BEP 2000 ADVANCE® Y LOS SISTEMAS QUADRIGA® Y QUADRIGA® BeFree, EL TEST TAMBIÉN PUEDE REALIZARSE EN FORMA NO AUTOMÁTICA, en ENVASES POR 192 O [960] DETERMINACIONES, CONTENIENDO: 2 (DOS) O [10 (DIEZ)] PLACAS DE ENSAYO ENZYGNOST® HBsAg 6.0, CONJUGADO 1 (CONJUGATE 1: 2 x 5 ml O [10 x 5 ml]), CONJUGADO 2 (CONJUGATE 2: 2 x 12.5 ml O [10 x 12.5 ml]), CONTROL NEGATIVO (2 x 2.5 ml O [4 x 2.5 ml]) Y CONTROL POSITIVO (2 x 1.5 ml O [3 x 1.5 ml]). Se le asigna la categoría: Venta a laboratorios de Análisis clínicos por hallarse comprendido en las condiciones establecidas en la Ley 16.463, y Resolución M.S. y A.S. Nº 145/98. Lugar de elaboración: SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS PRODUCTS GmbH. Emil-von-Behring-Straße 76. 35041 Marburg. (ALEMANIA). Periodo de vida útil: 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración conservados entre 2 y 8 °C. En las etiquetas de los envases, anuncios y Manual de instrucciones deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO DE

USO "IN VITRO" USO PROFESIONAL EXCLUSIVO AUTORIZADO POR LA  
ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA  
MEDICA.

Certificado nº: **008467**

ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA  
MÉDICA.

*l*  
Buenos Aires, **31 AGO 2016**

**Dr. ROBERTO LEDER**  
Subadministrador Nacional  
A.N.M.A.T.

*Mr*  
Firma y sello