



REF

E-152



96



**INSTRUCCIONES DE USO
"DS-EIA-ANTI-HEV-M "
INMUNOENSAYO ENZIMATICO "ELISA" PARA LA DETECCION DE
ANTICUERPOS IgM CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS E**

INDICE

I. USO INDICADO.....	3
II. CONTENIDO DEL KIT "DS-EIA-ANTI-HEV-M".....	3
III. PRECAUCIONES.....	4
IV. INSTRUCCIONES DE SALUD Y SEGURIDAD.....	4
V. MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS NO INCLUIDOS EN EL KIT.....	5
VI. RECOLECCIÓN Y MANEJO DE MUESTRAS	5
VII. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS.....	5
VIII. PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA.....	6
IX. CALCULO DE RESULTADOS.....	7
X. CARACTERISTICAS DE EFICIENCIA DEL KIT "DS-EIA-ANTI-HEV-M ".....	8
XI. LÍMITES DE LA PRUEBA.....	10
XII. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE	10
XIII. REFERENCIAS	10
XIV. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS.....	11
ANEXOS.....	12

Este inserto provee información para uso profesional del Kit manufacturado en 2 formatos.

El formato 1 contiene suficientes reactivos para 96 ensayos (una placa separable) el ensayo incluye los controles; el uso del Kit es indicado para prueba manual con la posibilidad de fraccionar (una tira) el uso del kit fraccionado (32x3) usando el kit con un analizador automático abierto para inmunoensayo enzimático.

El formato 2 contiene suficientes reactivos para 480 ensayos (5 placas separables) el ensayo incluye los controles, el uso del kit es indicado para prueba manual con la probabilidad de fraccionar (una tira) o para 480 (96x5) usando el kit con un analizador automático abierto para inmunoensayo enzimático.

I. USO INDICADO

El kit "DS-EIA-ANTI-HEV-M" es un inmunoensayo enzimático "Elisa" para la detección de anticuerpos IgM contra la hepatitis E en suero/plasma sanguíneo humano.

Tabla 1

II. CONTENIDO DEL KIT "DS-EIA-ANTI-HEV-M"

ETIQUETA	NATURALEZA DE LOS REACTIVOS	PRESENTACION	
		1	2
Tiras Recubiertas HEV-Ag	Placas en tiras de poliestireno con pozos incoloros transparentes recubiertos con una mezcla de antígenos recombinantes contra el virus de la hepatitis E. Almacenar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad.	1 placa	5 placas
Diluyente de la muestra	Líquido transparente o ligeramente opaco color violeta-azul. Puede formarse un sedimento oscuro que se disuelve al agitar. Agente conservante: 0.01% timerosal. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	0.5 ml 15.5 frasco	1.0 ml 50.0 frasco
Conjugado (concentrado 21-veces)	Antígenos monoclonales de ratón contra la IgM humana, conjugados con peroxidasa de remolacha. Líquido transparente o ligeramente opaco, incoloro o amarillo pálido. Agentes conservantes: 0.04 ProClin 300, Gentamicina 0.04%. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	1 frasco 0.75 ml	1 frasco 5.0 ml
Diluyente del conjugado	Líquido transparente a 2-8°C de color amarillo, a 18-24°C se torna opaco. Agente conservante: 0.01% timerosal. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	1 frasco 13.5 ml	1 frasco 100.0 ml
Control Positivo	Suero (plasma) sanguíneo inactivado con calor positivo a anti-HEV-IgM, , negativo para anti-HIV 1,2, HBsAg y anti-HCV. Líquido transparente o ligeramente opaco de color rojo . Agente conservante: 0.04% ProClin 300, 0.1% de azida de sodio. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	2.0 ml 1.5 frasco	2.0 ml 5.0 frasco
Control Negativo	Suero (plasma) sanguíneo inactivado con calor, negativo a anti-HEV-IgM, anti-HIV 1,2, HBsAg y anti-HCV. Líquido transparente o ligeramente opaco de color verde . Agente conservante: 0.01% timerosal, 0.01% azida de sodio. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	2.5 ml 2.5 frasco	2.5 ml 5 frasco
Solución de lavado (Concentrada 25 veces)	Solución de lavado concentrada x 25. Líquido transparente o ligeramente opaco de color amarillo pálido, puede formarse un sedimento que se disuelve a 35-39 °C y agitando. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	1 frasco 50.0 ml	1 frasco 120.0 ml

Sustrato-Buffer	Solución de ácido cítrico y acetato de sodio, pH 4.1 - 4.3, contiene H ₂ O ₂ . Líquido de color transparente. Agente conservante: 0.05% ProClin 300. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	1 frasco 15.0 ml	3 frascos 25.0 ml
TMB (concentrado 21-veces)	Solución que contiene Tetrametilbenzidina (TMB). Líquido de color transparente. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	1 frasco 1.5 ml	2 frasco 3.5 ml
Reactivo de parada	0.75 M/L Solución de ácido Sulfúrico. Líquido incoloro, transparente. Almacenar a 2-8°C en el frasco bien cerrado hasta la fecha de caducidad.	1 frasco 25.0 ml	2 frasco 25.0 ml

Adicionalmente el siguiente material puede estar incluido en el kit:

- Una tapa para una placa de poliestireno de 96 pozos o una película adhesiva para las placas EIA;
- Puntas desechables;
- Un plato de plástico para reactivos líquidos;
- Una bolsa de plástico con auto cierre.

III. PRECAUCIONES

La confiabilidad de los resultados depende de la correcta aplicación de las siguientes Buenas Prácticas de Laboratorio:

- La temperatura del laboratorio debe estar entre 18-24 °C.
- No utilice reactivos caducados
- No mezclar reactivos de diferentes lotes dentro de una serie de ensayos.
- Antes de usar, es necesario esperar 30 minutos para que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente (18-24 °C).
- Con cuidado reconstituir los reactivos evitando cualquier tipo de contaminación.
- No realizar la prueba en presencia de vapores de reactivos (ácido, alcalino, aldehído) o polvo que podrían alterar la actividad enzimática de los conjugados.
- Utilizar material de vidrio bien lavado y enjuagado con agua desionizada o de preferencia, material desechable.
- No permita que se seque la microplaca entre el final de la operación de lavado y la distribución de los reactivos.
- La reacción de las enzimas es muy sensible a los iones metálicos. En consecuencia, no permita que ningún elemento de metal entre en contacto con las diferentes soluciones de conjugado o sustrato.
- Use una punta de distribución nueva para cada muestra.
- El buen lavado es un paso crítico en este procedimiento: respete el número recomendado de ciclos de lavado y asegúrese de que todos los pozos se llenan por completo y luego se vacíen totalmente. El lavado incorrecto puede conducir a resultados inexactos.
- No utilice el mismo recipiente para distribuir solución de conjugado y el desarrollador de color.
- Compruebe el correcto funcionamiento de las pipetas y otros equipos de precisión.
- No cambie el procedimiento del ensayo.
- Utilice agua de alta calidad.
- Evite la exposición de los reactivos al calor excesivo o la luz solar durante el almacenamiento y la incubación.

IV. INSTRUCCIONES DE SALUD Y SEGURIDAD

- Todos los reactivos contenidos en el kit son destinados para su "uso para diagnóstico in vitro".
- El material de origen humano usado en la preparación del Control Negativo ha sido probado y encontrado negativo a HBsAg, anticuerpos del virus de la hepatitis C y a anticuerpos del virus de inmunodeficiencia humana (HIV-1 and HIV-2).
- Debido a que ningún método de prueba puede ofrecer una completa seguridad que agentes infecciosos estén ausentes, manipule los reactivos y las muestras de los pacientes como si fueran capaces de transmitir una enfermedad infecciosa.

- No coma, beba, fume, o aplique cosméticos donde materiales inmunodiagnósticos están siendo manipulados.
- No pipetee con la boca.
- Cualquier equipo en contacto directo con las muestras o los reactivos así como las soluciones de lavado deben considerarse como productos contaminados y manejados como tales.
- Vista bata de laboratorio y guantes desechables cuando manipule reactivos y muestras y lave muy bien sus manos después de manejarlos.
- Evite salpicar muestras o soluciones que contengan muestras. Limpie las salpicaduras inmediatamente y descontamine las superficies.
- Evite cualquier contacto con el sustrato TMB y la solución de parada con la piel o la mucosa.
- Provea adecuada ventilación.
- No olvide neutralizar y/o usar la autoclave con los residuos de lavado o cualquier fluido que contenga muestras biológicas antes de verterlas en el contenedor. Muestras y reactivos de origen humano, así como, material contaminado y productos deben ser desechados después de ser descontaminados: ya sea por inmersión en hipoclorito a una concentración final del 5% de hipoclorito de sodio (1 parte de hipoclorito por cada 10 partes de fluido contaminado o agua) por 30 minutos. También los residuos sólidos deben ser desinfectados con autoclave por una hora a una temperatura de 124-128 °C y a una presión de 1.5 kHz/sm² (0.15 MPa). También los residuos líquidos pueden ser desinfectados mediante un tratamiento de ebullición por 30 minutos o con uso del autoclave por una hora a una temperatura de 124-128 °C y una presión de 1.5 kHz/sm² (0.15 MPa). Instrumentos y equipos deben ser limpiados 2 veces con etanol al 70% antes y después de su uso.
- Algunos reactivos contienen ProClin 300 (0.5 %).



X_i Irritante. Puede causar sensibilización de la piel por contacto. Después del contacto con la piel, lavar inmediatamente con abundante agua y jabón.

V. MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS NO INCLUIDOS EN EL KIT:

- Agua purificada.
- Pipetas, de un canal y multicanal, volumétricas o graduadas para medir y dispensar 10µl, 50µl, 90µl, 100µl.
- Puntas de pipeta desechables.
- Incubadora de microplacas (37.0 ± 0.5) °C.
- Lavador automático de microplacas.
- Lector de microplacas equipado con un filtro de 450 nm o con filtros de 620-680 nm.
- Guantes desechables.

VI. RECOLECCION Y MANEJO DE MUESTRAS

La toma de muestras de sangre debe ser implementada de acuerdo a las prácticas actuales. Se debe usar suero o plasma. Separar el suero de las células sanguíneas lo más pronto posible para evitar cualquier hemolisis. Una hemolisis extensa puede afectar la eficiencia de la prueba. Muestras con sustancias particuladas visibles deben ser clarificadas por centrifugación antes de ser probadas. Partículas suspendidas de fibrina o agregados pueden conducir la obtención de resultados falsos positivos. No caliente la muestra.

Las muestras pueden ser almacenadas a 2-8 °C por no más de 72 horas; pueden ser congeladas a -20 °C. El plasma debe ser rápidamente descongelado por algunos minutos, en baño maría a 40 °C (para evitar la precipitación de fibrina). Evite los ciclos repetidos de congelación/descongelación. Muestras que han sido congeladas y descongeladas por más de una vez no deben ser usadas. Muestras de suero o plasma contaminadas, con hemolisis manifiesta o hiperlipidemia no deben ser analizadas.

VII. PREPARACION DE LOS REACTIVOS

1. Reactivos listos para su uso:

- Control Negativo
- Control Positivo

- Diluyente del conjugado
- Diluyente de la muestra
- Reactivo de Parada

2. Reactivos para preparar:

- **Tiras Recubiertas con antígeno HEV-Ag:** Cada placa de 12 tiras está empacada en una bolsa de papel aluminio sellada. Abra la bolsa y remueva la placa. Seleccione el número de tiras recubiertas que necesitara para el ensayo. Devuelva las tiras no utilizadas a la bolsa. Después de que el empaque de aluminio al vacío ha sido abierto, las tiras son estables por 6 meses almacenadas a 2-8 °C, cierre la bolsa en papel aluminio con un clip o coloque las tiras en la bolsa de polietileno con auto-cierre. El gel de silicio no debe ser retirado del empaque en aluminio.
- **Solución de lavado de trabajo:** Mezcle bien el contenido del frasco con la solución de trabajo concentrada (x25). Diluya el volumen requerido de solución de lavado concentrada con el correspondiente volumen de agua purificada antes de su uso (Vea tabla 2). Agite bien por inversión. La solución de lavado preparada es estable por al menos 14 días almacenada a 18-24 °C o por 28 días a 2-8 °C, cuando se usan las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- **Solución de Trabajo del Conjugado:** La Solución de Trabajo del Conjugado debe ser preparada antes de su uso. Mezcle bien el contenido del frasco con el concentrado del Conjugado. Mezcle el Conjugado concentrado con el correspondiente volumen de la muestra y el diluyente del conjugado (Vea tabla 2), evite la formación de espuma. La solución de trabajo del conjugado es estable por 12 horas cuando se almacena en un lugar oscuro a 18-24 °C.
- **Mezcla Sustrato:** Diluya el volumen requerido de TMB (concentrado 21 veces) con el correspondiente volumen de Buffer sustrato en proporción de (1:20 ratio) (Vea Tabla 2). Mezcle bien. La mezcla sustrato debe ser preparada antes de su uso. La mezcla sustrato es estable por no más de 10 horas cuando se almacena en un lugar oscuro a 18-24 °C en frascos limpios o en contenedores especiales destinados a el procedimiento EIA usando un analizador automático. **La mezcla sustrato debe ser incolora!**

3. Almacenamiento para reactivos no usados

Después de abrir los frascos los componentes no usados del kit: Control Negativo, Control Positivo, Buffer sustrato, Diluyente de la muestra, Diluyente del conjugado, Solución de Lavado (concentrada 25 veces), Reactivo de Parada, TMB (concentrado 21 veces), Conjugado (concentrado 21 veces) pueden ser almacenados en frascos bien cerrados hasta la fecha de caducidad del kit a 2-8 °C. Las Tiras Recubiertas HEV-Ag no deben ser almacenadas por más de 6 meses a 2-8 °C.

VIII. PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Nota: Antes de usar, permita a los reactivos alcanzar la temperatura ambiente (18 – 24 °C) por 30 minutos.

El volumen requerido de reactivos para un cierto número de tiras o la placa, están representadas en la Tabla 2.

Tabla de Consumo de reactivos del kit

Numero de tiras a ser usadas	Solución de Trabajo de Lavado		Solución de Trabajo del Conjugado		Mezcla Substrato	
	Solución de Lavado concentrada x 25 (ml)	Agua Destilada (ml)	Conjugado concentrado x 21 (ml)	Diluyente del conjugado (ml)	TMB concentrado x 21 (ml)	Buffer Substrato (ml)
1	4.0	96.0	0.05	1.0	1.0	0.05
2	8.0	192.0	0.10	2.0	2.0	0.10
3	12.0	288.0	0.15	3.0	3.0	0.15
4	16.0	384.0	0.20	4.0	4.0	0.20
5	20.0	480.0	0.25	5.0	5.0	0.25
6	24.0	576.0	0.30	6.0	6.0	0.30
7	28.0	672.0	0.35	7.0	7.0	0.35
8	32.0	768.0	0.40	8.0	8.0	0.40
9	36.0	864.0	0.45	9.0	9.0	0.45
10	40.0	960.0	0.50	10.0	10.0	0.50
11	44.0	1056.0	0.55	11.0	11.0	0.55
12	50.0	1200.0	0.65	13.0	13.0	0.65

1. Llave las tiras recubiertas con la Solución de Lavado de Trabajo 2 veces antes del ensayo. añada dentro de cada pozo 380-400 µl de Solución de Lavado de Trabajo. Deje empapar por al menos 40 segundos y después aspire. Repita este procedimiento 6 veces. Se recomienda de manera enfática el uso de un lavador automático de microplacas. El lavado incompleto afectara de manera negativa la precisión del ensayo.

2. Pipetee 100 µl de Control Positivo y Control Negativo en duplicado. Pipetee 90 µl del Diluyente de la Muestra y 10 µl de las muestras a probar en el resto de los pozos. El color azul-violeta debe cambiar a un azul-verdoso. Cubrir las placas con la tapa o el film protector e incubar por 30 minutos en una incubadora de microplacas a 37.0 ± 0.5 °C.

3. Remueva el contenido de los pozos y lave 4 veces con la solución de Lavado de Trabajo como descrito en el procedimiento 1.

4. Pipetee 100 µl de la solución de trabajo del conjugado dentro de cada pozo. Cubra las placas con la tapa o el film protector. Incubar por 30 minutos en una incubadora de microplacas a 37.0 ± 0.5 °C.

5. . Remueva el contenido de los pozos y lave 4 veces con la solución de Lavado de Trabajo como descrito en el procedimiento 1.

6. Pipetee 100 µl de Mezcla Substrato dentro de cada pozo. Mantenga las placas en un lugar oscuro por 20 minutos a 18-24 °C.

7. Detenga la reacción añadiendo 50 µl de Reactivo de Parada dentro de cada pozo. Mezcle el contenido de los pozos cuidadosamente golpeando el borde de la placa y Lea la densidad óptica a 450/620-680 nm usando un lector de placas.

El esquema del ensayo está representado en el anexo.

IX. CALCULO DE RESULTADOS

La presencia o ausencia de anticuerpos al virus de la hepatitis E se determina por la proporción de la OD para cada muestra con el valor calculado de cut-off.

Para que el ensayo sea válido, los valores OD del Control Positivo no debe ser menor de 0.6 y la media del valor OD del Control Negativo no es mayor de 0.2.

- Cut Off :Valor de referencia

Calcular el valor de Cut-Off como:

$$\text{Cut-Off} = (\text{valor medio OD del Control Negativo}) + 0.200$$

0.200 – es un coeficiente definido por el fabricante durante el proceso estadístico de cada lote.

La muestra es Negativa: si el valor OD es < Cut-Off

La muestra es Positiva: si el valor OD es ≥ Cut-Off

X. CARACTERISTICAS DE EFICIENCIA DEL KIT "DS-EIA-ANTI-HEV-M"

Sensibilidad y especificidad

Los siguientes grupos de sueros fueron usados en la pruebas:

1. Muestras de suero de donadores sanos (n=600)
2. Muestras de suero conteniendo diferentes marcadores de infección:
 - Anti-HAV-IgM positive (n=27)
 - HbsAg positivas (n=109)
 - Anti-HCV IgM positivas (n=323)
 - CMV PCR positivas (n=28)

3. HEAb Panel: Muestras de suero de chimpancés que contienen y no contienen anticuerpos contra HEV (n=8). Los paneles HEAb consisten en muestras de suero de chimpancés, que no contienen anti-HEV IgG (suero No.1 No.2), que contienen anti-HEV IgM e IgG (suero No.3) y que contienen anti-HEV en diferentes concentraciones (suero No.4-8). Todos los sueros positivos fueron recolectados durante un periodo de un año después de la infección.

4. La muestra Estándar del fabricante (SOP K+ No 2.02.04 DSI S.r.l.). La muestra es suero humano que contiene IgM humana, probada con "Anti HEV IgM" (Genelabs Diagnostics, Singapur). La muestra ha sido designada por un control tecnológico y la evaluación del "DS-EIA-ANTI-HEV-M". SOP K+ se caracteriza en su CoA y debe ser titulado de acuerdo al manual de instrucciones.

La sensibilidad y especificidad del kit "DS-EIA-ANTI-HEV-M" fue probada con muestras de suero que contenían y no contenían anticuerpos HEV de los paneles HEAb y SOP K+.

Los resultados de las pruebas se ilustran en la tabla 3.

Tabla 3

Evaluación de sensibilidad y especificidad de e lotes de laboratorio del kit «DS-EIA-ANTI-HEV-M»

Numero de suero	SOP K+ 2.02.04		HEAb	
	SOP K+ títulos	OD/Cut-off	OD (media de los ±δ de los lotes de laboratorio)	OD/Cut-off
1	Completo	2.15	0.019 ± 0.003	0.091
2	1:2	5.01	0.023 ± 0.004	0.0109
3	1:4	3.60	0.395 ± 0.045	1.881
4	1:8	2.03	0.025 ± 0.003	0.120
5	1:16	1.09	0.045 ± 0.006	0.200
6			0.028 ± 0.003	0.130
7			0.035 ± 0.005	0.170
8			0.022 ± 0.003	0.110

Como se ilustra en la tabla, la sensibilidad del kit "DS-EIA-ANTI-HEV-M" es del 100%. Los resultados positivos fueron obtenidos con todas las muestras positivas de los paneles HEAb y SOP K+. La OD en caso de sueros negativos fue menor del valor de referencia (Cut-Off) lo cual muestra una especificidad del 100%.

Evaluaciones comparativas de la eficiencia diagnóstica del kit "DS-EIA-ANTI-HEV-M" y del kit "Anti HEV EIA IgM" de Genelabs, Singapur ha sido llevada a cabo usando el mismo SOP K+ y el HEAb. Todas las muestras de suero fueron probadas con ambos kits. Los resultados se ilustran en la Tabla 4.

Tabla 4

Evaluación comparativa de la eficiencia diagnóstica de los kits «DS-EIA-ANTI-HEV-M» y «Anti HEV EIA IgM»

Numero de suero	«DS-EIA-ANTI-HEV-M»		«Anti HEV EIA IgM»	
	SOP K+ títulos	HEab	SOP K+	HEab
	OD/Cut-off		OD/Cut-off	
1	Completo/5.15	0.091	1:2/6.15	0.083
2	1:2/5.0	0.109	1:4/4.62	0.129
3	1:4/3.6	1.880	1:8/2.94	1.214
4	1:8/2.03	0.120	1:16/1.50	0.220
5	1:16/1.09	0.200		0.180
6		0.130		0.165
7		0.170		0.270
8		0.110		0.090

Los datos ilustrados sugieren que la eficiencia comparada de los kits es igual.

Diferentes grupos de la población con diferentes enfermedades infecciosas o donadores de sangre fueron probados para obtener la especificidad diagnóstica del sistema. Los datos obtenidos se ilustran en la Tabla 5.

Tabla 5

Reactividad Anti-HEV de los sueros recolectados de diferentes grupos de la población

Grupos de pacientes	«DS-EIA-ANTI-HEV-M»		
	Sueros totales estudiados	HEV Ab IgM Número de sueros positivos	
		Cantidad	porcentaje
Donadores de sangre	600	2	0.3
Pacientes Hep. A	27	0	0
Pacientes Hep. B	109	1	0.9
Pacientes Hep. C	323	2	0.6
Pacientes CMV	28	0	0
total	987	5	0.5

Como se puede ver en la Tabla 5, el kit "DS-EIA-ANTI-HEV-M" revela que el 3% de los sueros positivos fueron donadores de sangre, del 0-0.9% de los pacientes con hepatitis aguda. Todas las muestras positivas fueron probadas con el kit Anti HEV EIA IgM. Todos los sueros probados negativos con el kit de referencia, lo que sugiere una especificidad relativa del 99.5%.

La Tabla 6 ilustra los resultados del estudio comparativo de los kits "Anti HEV EIA IgM" y "DS-EIA-ANTI-HEV-M". 10 Sueros positivos por HEV PCR que fueron usados en el estudio se recolectaron en los estadios iniciales de la hepatitis E.

Tabla 6

Evaluación comparativa de la detección de anti-HEV IgM con los kits «DS-EIA-ANTI-HEV-M» y «Anti HEV EIA IgM» en sueros recolectados en los estadios iniciales de la hepatitis E

Número de suero	«DS-EIA-ANTI-HEV-M»		«Anti HEV EIA IgM»	
	OD	Resultados	OD	Resultados
1	0.540	+	0.854	+
2	0.810	+	1.032	+
3	2.300	+	1.124	+
4	0.450	+	0.496	+
5	2.800	+	2.000	+
6	1.940	+	1.856	+
7	0.860	+	0.920	+
8	0.357	+	0.550	+
9	0.281	+	0.350	+
10	2.318	+	2.000	+
Cut-off	0.245		0.219	

Los datos muestran que ambos kits revelaron resultados positivos para todas las muestras. Los valores de OD fueron muy cercanos para los dos kits. Los resultados mostrados indican que ambos sistemas tienen un parámetro de sensibilidad similar.

XI. LIMITES DE LA PRUEBA

- No se debe usar una prueba serológica única para emitir un diagnóstico final. Todos los datos clínicos y de laboratorio deben ser tomados en consideración.
- En pacientes inmunocomprometidos y en recién nacidos los datos serológicos deben tener un valor limitado.

XII. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

Su vida útil es de 15 meses. Mantener en un lugar oscuro y a 2-8 °C.

El transporte debe ser efectuado mediante toda clase de medios que garanticen una temperatura de 9-20 °C con una duración no mayor a diez (10) días. La congelación es prohibida.

El nombre y la dirección del fabricante son:

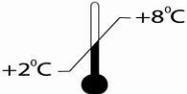


DSI S.r.l.
Saronno (VA), Vía A.Volonterio, 36a, 21047, Italia
Tel: +39 02 967 09111, Fax: +39 02 962 0185
E-mail: info@dsitaly.com, www.dsitaly.com

XIII. REFERENCIAS

1. Obriadina A, Meng JH, Ulanova T, Trinta K, Burkov A, Fields HA, Khudyakov YE. A new enzyme immunoassay for the detection of antibody to hepatitis E virus. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002 Dec;17 Suppl 3:S360-4.
2. Legrand-Abravanel F, Thevenet I, Mansuy JM, Saune K, Vischi F, Peron JM, Kamar N, Rostaing L, Izopet J. Good performance of immunoglobulin M assays in diagnosing genotype 3 hepatitis E virus infections. *Clin Vaccine Immunol.* 2009 May;16(5):772-4. Epub 2009 Mar 25.
3. Huang S, Zhang X, Jiang H, Yan Q, Ai X, Wang Y, Cai J, Jiang L, Wu T, Wang Z, Guan L, Shih JW, Ng MH, Zhu F, Zhang J, Xia N. Profile of acute infectious markers in sporadic hepatitis E. *PLoS One.* 2010 Oct 21;5(10):e13560.
4. Drobeniuc J, Meng J, Reuter G, Greene-Montfort T, Khudyakova N, Dimitrova Z, Kamili S, Teo CG. Serologic assays specific to immunoglobulin M antibodies against hepatitis E virus: pangenotypic evaluation of performances. *Clin Infect Dis.* 2010 Aug 1;51(3):e24-7.

XIV. EXPLICACION DE LOS SIMBOLOS

	Marcado CE (Directiva Europea 98/79/CE para los dispositivos médicos para diagnóstico in vitro)
	Para uso diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Código de Catalogo
	Suficiente Para # de pruebas
	Código del Lote
	Limitación de la temperatura para el almacenamiento
	Fecha de caducidad Año Mes- Día
	Consultar Instrucciones de uso
	Contiene un agente irritante

Esquema del Ensayo

1	Lave la placa	Solución de Trabajo de lavado 380 µl, 2 veces
2	Añadir	100 µl de Control Positivo, Control Negativo
3	Añadir	90 µl de Diluyente de la muestra
4	Añadir	10 µl de muestras probadas
5	Incubar	30 min, (37.0 ± 1.0) °C, incubador de microplacas
6	Lave la placa	Solución de Trabajo de lavado 380 µl, 4 veces
7	Añadir	100 µl of Solución de Trabajo del Conjugado
8	Incubar	30 min, (37.0 ± 1.0) °C, incubador de microplacas
9	Lave la placa	Solución de trabajo de la lavado 380 µl, 4 veces
10	Añadir	100 µl of mezcla del sustrato
11	Incubar	20 min, 18-24 °C en un lugar oscuro
12	Añadir	50 µl de Reactivo de parada
13	Lea la densidad óptica	450 nm/620-680 nm o 450 nm