



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

DISPOSICIÓN N° 13041

BUENOS AIRES 29 NOV. 2016

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-783/16-8 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma WM ARGENTINA S.A. solicita la ampliación de uso del producto diagnóstico de uso "in Vitro" denominado LIASON XL MUREX CHAGAS, autorizado por Certificado N° 008274.

Que a fojas 61 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

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

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre del 2015.

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase a la firma WM ARGENTINA S.A. la ampliación de uso del producto para Diagnóstico de uso In Vitro denominado LIASON XL MUREX con el instrumento LIAISON XL ANALYZER y uso con muestras cadavéricas.



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

DISPOSICIÓN N° 13041

ARTÍCULO 2º.- Acéptense los nuevos proyectos de Manual de Instrucciones a fojas 37 a 40, 42, 43 a 46, 48. Desglosándose las fojas 61 a 65, donde deberán constar las modificaciones descriptas en el artículo 1º precedente.

ARTICULO 3º.- Practíquese la atestación correspondiente en el Certificado n° 008274, cuando el mismo se presente acompañado de la fotocopia autenticada de la presente Disposición.

ARTÍCULO 4º.- Regístrese; gírese a la 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 Manual de Instrucciones. Cumplido, archívese.-

Expediente n°: 1-47-3110-783/16-8

DISPOSICIÓN N°: : **13041**

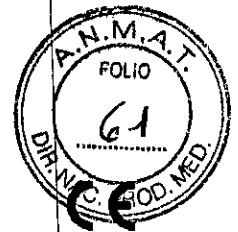
fd

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



DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871

29 NOV. 2016



13041

Modificaciones: \$7, \$9, \$14, \$15.4;
Supresiones: -

LIAISON® XL MUREX Chagas (REF 310280)

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

LIAISON® XL MUREX Chagas es un inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cualitativa de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) en suero y plasma humanos.

La finalidad del ensayo es efectuar un cribado de anticuerpos anti-*T. cruzi* en donantes humanos individuales o facilitar el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

El ensayo debe realizarse en instrumentos LIAISON® XL Analyzer solamente.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad zoonótica causada por el protozoo flagelado hemático *T. cruzi*. El tripanosoma se transmite al huésped vertebrado a través de las deposiciones de insectos hematófagos (insectos triatomínicos) infectados. La transmisión también se produce por la transfusión de hemoderivados, el trasplante de órganos o la infección congénita, así como por vía oral mediante la ingestión de alimentos contaminados con el parásito y poco cocinados.

La enfermedad presenta un amplio espectro de manifestaciones patológicas en diferentes áreas geográficas de Latinoamérica. En casos de infección aguda pueden presentarse pocos o ningún síntoma. Los síntomas de infección crónica pueden ser cardiomiopatía inflamatoria o inflamación severa del esófago o el colon. A consecuencia de la infección con *T. cruzi*, hasta el 30% de los infectados puede presentar síntomas cardíacos y/o dilatación de las vísceras huecas, que son característicos de la enfermedad de Chagas crónica.

Los anticuerpos anti-*T. cruzi* aparecen poco después de que ocurra la infección, alcanzan niveles altos y pueden persistir, junto con la infección, durante años, aunque el parásito se encuentre en el interior de las células del huésped.

En este inmunoensayo se emplea una proteína recombinante con múltiples secuencias antigénicas que representa 9 regiones antigénicas distintas y está diseñada para expresar los epítopos de *T. cruzi* involucrados en la respuesta inmune. El reconocimiento del antígeno por los anticuerpos en seres humanos indica la presencia del parásito.

3. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El método para la determinación cualitativa de los anticuerpos IgG específicos anti-*T. cruzi*, el agente causante de la enfermedad de Chagas, es el inmunoensayo indirecto por quimioluminiscencia (CLIA). Se utiliza un multiantígeno recombinante multiépítopos específico de *T. cruzi* para recubrir las partículas magnéticas (fase sólida). Durante la primera incubación, los anticuerpos anti-*T. cruzi* presentes en la muestra se unen a la fase sólida por medio del antígeno recombinante. Durante la segunda incubación, un anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgG humana, enlazado a un derivado del isoluminol (conjugado anticuerpo-isoluminol), reacciona con anticuerpos IgG anti-*T. cruzi* ya enlazados a la fase sólida. Después de cada incubación, se elimina el material no enlazado mediante un ciclo de lavado. A continuación se añaden los reactivos starter que inducen una reacción de quimioluminiscencia instantánea. La señal luminosa, y por lo tanto la cantidad de conjugado anticuerpo-isoluminol, se mide en RLU (relative light units, unidades relativas de luz) con un fotomultiplicador e indica la presencia de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi* en las muestras o los controles.

4. MATERIALES SUMINISTRADOS

Integral de reactivos

Partículas magnéticas (2,5 mL)	SORB	Partículas magnéticas recubiertas con antígeno recombinante de la enfermedad de Chagas (obtenido en <i>E. coli</i>), albúmina sérica bovina, tampón PBS y conservantes.
Calibrador (3,5 mL)	CAL	Suero/plasma humano reactivo para anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i> , albúmina sérica bovina, tampón PBS, ProClin® 300 al 0,2% y un colorante amarillo inactivo.
Diluyente de muestras (2 x 28 mL)	DIL/SPE	Albúmina sérica bovina, caseína, tampón fosfato, ProClin® 300 al 0,2% y un colorante azul inactivo.
Conjugado (23 mL)	CONJ	Anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgG humana conjugados con un derivado del isoluminol, tampón PBS, ProClin® 300 al 0,2%, conservantes y un colorante amarillo inactivo.
Número de ensayos		100

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. El orden de los reactivos refleja la disposición de los recipientes en el integral de reactivos.

Materiales necesarios, pero no suministrados

- LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016)
- LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)
- LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)
- LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)
- LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)

WM ARGENTINA S.A.
MARIA FRETES
DIRECTORA TÉCNICA
N. N. 6120

Otros materiales necesarios

- Controles LIAISON® XL MUREX Chagas (negativo y positivo) (REF 310281)

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Todas las unidades de suero y plasma humanos utilizadas para elaborar los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivas para la presencia de HBSAg, anti-VHC, anti-VIH-1 y anti-VIH-2. Las unidades positivas para anticuerpos anti-*T. cruzi* pueden proceder de pacientes infectados con la enfermedad de Chagas y, por consiguiente, se deben considerar como potencialmente infecciosas. Sin embargo, dado que ningún método de análisis puede garantizar totalmente la ausencia de agentes patógenos, todo el material de origen humano deberá considerarse potencialmente infeccioso y manipularse como tal.

6. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume ni se maquille durante el ensayo.


No utilice la pipeta con la boca.

Evite el contacto con material potencialmente infectado mediante el uso de vestuario de laboratorio, protectores oculares y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite las salpicaduras y la formación de aerosoles. Las gotas de reactivo biológico deben eliminarse con una solución de hipoclorito sódico que contenga un 0,5% de cloro activo, y los materiales empleados deben tratarse igual que los desechos infectados.

Todas las muestras y los reactivos que contienen materiales biológicos y se usan en el ensayo deben considerarse posibles transmisores de agentes infecciosos. Los residuos deben manipularse con cuidado y eliminarse de conformidad con el protocolo del laboratorio y las disposiciones legales vigentes en cada país. El material que se vaya a reutilizar tendrá que esterilizarse correctamente de acuerdo con las normas y leyes locales. Compruebe la eficacia del ciclo de esterilización/descontaminación.

De acuerdo con el Reglamento CE 1272/2008 (CLP), los reactivos peligrosos se han clasificado y etiquetado como sigue:

REACTIVOS:	CAL, CONJ, DIL/SPE
CLASIFICACIÓN:	Skin sens. 1 H317
PALABRA INDICADORA:	Advertencia
SÍMBOLOS/PICTOGRAMAS:	 GHS07 – Signo de exclamación
INDICACIONES DE PELIGRO:	H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
INDICACIONES DE PRECAUCIÓN:	P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P363 Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.
CONTIENE: (solamente las sustancias con arreglo al Artículo 18 del Reglamento CE 1272/2008).	masa de reacción: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolín-3-ona [CE N.º 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [CE N.º 220-239-6] (en proporción 3:1) (ProCin® 300).

De acuerdo con el Reglamento CE 1272/2008 (CLP), **SORB** se ha etiquetado como EUH210; puede solicitarse la ficha de datos de seguridad.

Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad que se encuentran disponibles en el sitio www.diasorin.com.

7. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

INTEGRAL DE REACTIVOS

Para manipular los reactivos es preciso adoptar una serie de precauciones importantes:

Resuspensión de las partículas magnéticas

Las partículas magnéticas deben estar completamente resuspendidas antes de colocar el integral en el instrumento. Siga los pasos indicados a continuación para garantizar la suspensión completa de las partículas:

Antes de quitar el precinto, gire la rueda pequeña del compartimento de partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte un color marrón. Agite el integral de reactivos suave y cuidadosamente de lado a lado para facilitar la suspensión de las partículas magnéticas (evite la formación de espuma). Controle visualmente el fondo del contenedor de las partículas magnéticas para cerciorarse de que no hayan quedado partículas magnéticas sedimentadas. Seque con sumo cuidado la superficie de cada pared para eliminar el líquido residual.

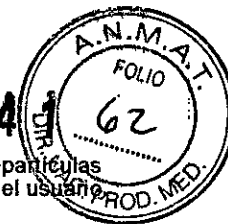
Si es necesario, repita el procedimiento hasta que las partículas magnéticas estén completamente resuspendidas.

Una resuspensión incompleta de las partículas magnéticas puede causar resultados analíticos variables e inexactos.

Formación de espuma en los reactivos

Para garantizar las mejores prestaciones del integral, se recomienda evitar la formación de espuma en los reactivos. Respete las recomendaciones siguientes:

Antes de usar el integral, controle visualmente los reactivos y en especial el calibrador (segunda posición después del frasco de partículas magnéticas) para asegurarse de que no se ha formado espuma. Si se observa la presencia de espuma tras la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que se disuelva la espuma. Instale el integral en el área de reactivos una vez que se haya disuelto la espuma.



1304

Instalación del integral en el área de reactivos

- El instrumento LIAISON® XL Analyzer incorpora un dispositivo magnético que favorece la dispersión de las micropartículas antes de colocar un integral de reactivos en el área de reactivos del analizador. Consulte los detalles en el manual del usuario del analizador.
 - a. Coloque el integral de reactivos en la ranura específica.
 - b. Deje el integral de reactivos en el dispositivo magnético durante al menos 30 segundos (varios minutos como máximo). Si es necesario, repita la operación.
- Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta orientada a la izquierda y espere 15 minutos antes de utilizarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.
- Consulte el manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.

CONTROLES

Para preparar y manipular los controles correctamente, consulte la sección de instrucciones de uso del LIAISON® XL MUREX Chagas Control Set.

8. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DEL INTEGRAL DE REACTIVOS

- **Sellado:** estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.
- **Abierto en el instrumento o a 2-8°C:** estable durante doce semanas.
- Use las gradillas suministradas con el instrumento LIAISON® XL Analyzer para mantener el integral de reactivos en posición vertical.
- No lo congele.
- Mantenga el integral de reactivos en posición vertical mientras esté guardado para garantizar una adecuada resuspensión de las partículas magnéticas.
- Evite su exposición a luz directa.

9. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

En el ensayo puede emplearse suero o plasma humanos. Anticoagulantes como el citrato sódico, el EDTA, la heparina sódica o de litio, el oxalato potásico, el ACD (citrato-dextrosa ácido), el CPD (citrato-fosfato-dextrosa) y el CPDA (citrato-fosfato-dextrosa-adenina) se han analizado y pueden utilizarse en este ensayo. También se pueden utilizar muestras post-mortem, recogidas hasta 24 horas después de la muerte, que han sido comprobadas para su uso con este ensayo. En el ensayo debe utilizarse el tipo de muestra correcta.

Siga las instrucciones de los fabricantes de los tubos cuando utilice recipientes de recogida. Se debe extraer la sangre de forma aséptica mediante venipuntura y, después de centrifugar, separar el suero o el plasma del coágulo, los eritrocitos o el separador de gel.

Las condiciones de centrifugación son de 1.000 a 3.000 g durante 10 minutos. Las condiciones pueden variar según las recomendaciones del fabricante de los tubos. El laboratorio debe evaluar y validar otras condiciones de centrifugación.

Antes de enviar muestras, se deben eliminar las muestras de suero o plasma de coágulos, eritrocitos o el separador de gel. Las muestras pueden transportarse en hielo seco (congeladas), en hielo húmedo (a 2°-8°C) o a temperatura ambiente (20°-25°C), respetando las limitaciones de almacenamiento de muestras que se describen a continuación.

Las condiciones de transporte sin control (de la temperatura y el tiempo) pueden causar resultados analíticos inexactos. Durante los estudios de validación se utilizaron tubos de recogida de muestras que se comercializaban cuando se realizó el ensayo. Por consiguiente, no se han evaluado tubos de recogida de muestras de todos los fabricantes. Algunos dispositivos de extracción de sangre de diversos fabricantes pueden contener sustancias capaces de alterar los resultados de la prueba en algunos casos (Brown et al., Clinical Biochemistry, 43, 45, 2010).

En lo que respecta a las limitaciones de almacenamiento, si el ensayo va a realizarse en los ocho días siguientes a la extracción, las muestras libres de eritrocitos, coágulos o separador de gel pueden conservarse 2°-8°C; de lo contrario, hay que hacer partes alícuotas y congelarlas (-20°C o menos). Treinta muestras de suero o plasma de diferente reactividad se han guardado durante ocho días a 2-8°C, y once muestras de suero o plasma se han sometido a cuatro ciclos de congelación y descongelación. Los resultados no han presentado diferencias significativas; sin embargo se aconseja evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación. Las muestras congeladas deben descongelarse y agitarse bien antes de realizar el ensayo.

Con el fin de obtener resultados más coherentes, antes de realizar el ensayo es necesario depurar mediante otro ciclo de centrifugado (se recomienda 10 minutos a 10.000 g) las muestras libres de eritrocitos, coágulos o separador de gel que presenten material en suspensión, fibrina, opalescencia, lipemia o restos de eritrocitos, las muestras que hayan estado almacenadas a temperatura ambiente (20°-25°C) o se hayan congelado y descongelado, y las muestras que deban volver a analizarse. Las muestras que presenten una capa lipídica superior deben transferirse a otro tubo, con cuidado de transferir solo el material depurado. No use muestras fuertemente hemolizadas o lipémicas, ni muestras que contengan material en suspensión o presenten contaminación microbiana evidente. Elimine las burbujas de aire que pueda haber antes del ensayo.

El volumen mínimo de muestra necesario para una determinación es de 160 µL (10 µL de muestra + 150 µL de volumen muerto).

10. CALIBRACIÓN

El ensayo del calibrador contenido en el integral de reactivos permite determinar el valor límite (cut-off) del ensayo. La solución del calibrador permite realizar cuatro calibraciones.

La calibración debe realizarse por triplicado cada vez que se produzca al menos una de las siguientes condiciones:

- Se usa un nuevo kit de reactivos starter.
- Han pasado más de cuatro semanas desde la última calibración.
- Se usa un nuevo lote de integral de reactivos.
- El analizador ha recibido asistencia técnica.
- Los valores de control están fuera de los rangos esperados.

WM ARGENTINA S.A.
MARIA FRETES
DIRECTORA TECNICA
M. N. 6120

11. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Para obtener resultados correctos, es preciso respetar estrictamente las instrucciones proporcionadas en el manual del analizador. Cada parámetro de la prueba se identifica mediante la información codificada en la etiqueta del transpondedor de identificación por radiofrecuencia (RFID) del integral de reactivos. Si el instrumento no puede leer la etiqueta, el integral no debe utilizarse. No deseche el integral de reactivos; póngase en contacto con el servicio técnico local de DiaSorin para solicitar instrucciones.

Las operaciones que realiza el analizador son las siguientes:

1. Distribuye las partículas magnéticas recubiertas y el diluyente de muestras en las cubetas de reacción.
2. Distribuye el calibrador, los controles o las muestras.
3. Incuba.
4. Lava con el líquido de lavado/líquido del sistema.
5. Distribuye el conjugado en las cubetas de reacción.
6. Incuba.
7. Lava con el líquido de lavado/líquido del sistema.
8. Añade los reactivos starter y mide la luz emitida.

12. CONTROL DE CALIDAD

Los controles deben analizarse individualmente para determinar la eficacia del ensayo. En el control de calidad es preciso utilizar los controles LIAISON® XL MUREX Chagas,

- (a) al menos una vez por cada día de trabajo antes de realizar el ensayo,
- (b) cuando se usa un nuevo integral de reactivos,
- (c) cuando se calibra el kit,
- (d) cuando se usa un nuevo lote de reactivos starter,

o según las normas o los requisitos establecidos en los reglamentos locales o por entidades autorizadas.

Los valores de control deben permanecer dentro de los rangos previstos. Cada vez que el valor de uno o ambos controles no coincida con el rango esperado, habrá que repetir la calibración y evaluar de nuevo los controles. Si los valores siguen fuera de rango tras una calibración satisfactoria, será preciso repetir la prueba usando un frasco de control sin abrir. Los resultados no deben notificarse si los valores de control están fuera del rango previsto.

Antes de utilizar otros controles es preciso evaluar su compatibilidad con este ensayo, así como establecer los rangos de valores que se van a aplicar a todos los materiales de control de calidad utilizados.

13. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La presencia o ausencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* se determina comparando la señal de reacción de quimioluminiscencia con el valor límite proporcionado por la calibración del ensayo. El analizador calcula automáticamente el índice S/CO (relación entre la señal y el valor límite), y clasifica los resultados. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

Los resultados de las muestras deben interpretarse como sigue:

Las muestras con índice S/CO por debajo de 1,0 se consideran *no reactivas* para anticuerpos anti-*T. cruzi*.

Las muestras con índice S/CO mayor o igual que 1,0 se consideran *reactivas* para anticuerpos anti-*T. cruzi*.

Las muestras inicialmente reactivas se deben centrifugar y volver a analizar por duplicado. La reactividad repetida es un indicador altamente predictivo de la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Sin embargo y como ocurre con todos los inmunoensayos, en el ensayo LIAISON® XL MUREX Chagas pueden producirse a veces reacciones no específicas debido a otras causas. Las muestras con resultados repetidamente reactivos tendrán que seguir analizándose con otras pruebas específicas de la enfermedad de Chagas, como pruebas de inmunotransferencia y análisis de ácido nucleico para parásitos.

14. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para obtener resultados fiables es necesario atenerse estrictamente a las instrucciones de utilización y poseer una adecuada técnica manual.

La contaminación bacteriana de las muestras o la inactivación por calor pueden modificar los resultados del análisis.

Advertencia: Este ensayo solo es adecuado para analizar muestras simples; no es apto para analizar muestras diluidas, grupos de muestras o muestras inactivadas por calor.

La obtención de un resultado no reactivo para anticuerpos anti-*T. cruzi* no excluye la posibilidad de exposición a la enfermedad o de infección por *T. cruzi*. De hecho, el sujeto puede presentar niveles de anticuerpos por debajo del límite de detección del ensayo. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad infecciosa no debe basarse en el resultado de un solo ensayo, sino que debe estar respaldado por otras pruebas clínicas, otros procedimientos diagnósticos y la opinión del médico. Una evaluación diagnóstica diferencial completa de la enfermedad de Chagas y las condiciones clínicas relacionadas conlleva examinar el estado inmunológico y el historial clínico del paciente.

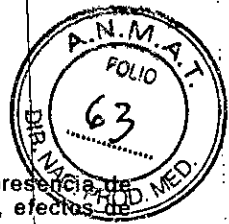
Como se señala en las publicaciones, los ensayos comerciales para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*, especialmente los basados en antígenos nativos, pueden evidenciar reactividad no específica en personas infectadas con enfermedades protozoarias, como la leishmaniasis o la malaria. Aunque se utilicen proteínas recombinantes, es importante tener esto en cuenta cuando se realicen análisis en poblaciones con alta prevalencia de las enfermedades relacionadas.

Antes de analizar muestras cadavéricas, deben efectuarse meticulosamente los procedimientos de recogida y centrifugación. Tras la muerte, la sangre puede sufrir hemólisis y otras alteraciones (incluida proteólisis y dilución), con el consiguiente riesgo de falsos negativos y falsos positivos en el ensayo. En sujetos transfundidos inmediatamente antes de morir, un alto porcentaje de hemodilución puede modificar los resultados debido a la dilución del analito.

E

15. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL MÉTODO

13041



15.1. Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la capacidad del ensayo para detectar analitos específicos en presencia de factores potencialmente interferentes en la matriz de la muestra (por ejemplo, anticoagulantes, hemólisis, efectos de tratamientos de la muestra) o de anticuerpos que puedan dar reactividad cruzada.

Interferencia. Estudios controlados de sustancias o factores potencialmente interferentes han demostrado que la eficacia del ensayo no depende de los anticoagulantes (citrato sódico, EDTA, heparina sódica y de litio, oxalato potásico, ACD, CPD o CPDA), la hemólisis (hasta 1.000 mg/dL de hemoglobina), la lipemia (hasta 3.000 mg/dL de triglicéridos), la bilirrubinemia (hasta 20 mg/dL de bilirrubina) o un número limitado de ciclos de congelación y descongelación de las muestras. En el resultado no influye el uso de muestras positivas obtenidas el mismo día, como se ha demostrado en un estudio comparativo llevado a cabo con 25 muestras recién obtenidas.

Reacciones cruzadas.

La finalidad del estudio de reactividad cruzada relacionado con el ensayo LIAISON® XL MUREX Chagas es evaluar las posibles interferencias de anticuerpos con otros organismos que podrían originar enfermedades infecciosas (VHB, HSV, CMV, rubeola, HAV, VIH, HTLV, VZV, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, EBV, VHC) y de otras condiciones derivadas de una actividad atípica del sistema inmunitario (autoanticuerpos anti-nucleares, anticuerpos humanos anti-ratón, factor reumatoide). Las muestras utilizadas en estos estudios se seleccionaron previamente con otro ensayo para la determinación de anticuerpos anti-*T. cruzi* comercial. Las muestras con resultado negativo se emplearon en el estudio de reactividad cruzada. Para detectar la presencia de posibles reactivos cruzados en las muestras se utilizó un ensayo que lleva la marca CE.

Condición	Número de muestras negativas previstas	LIAISON® XL resultados positivos
Anticuerpos IgG contra el virus de la rubeola	11	0
Anticuerpos IgG anti-VZV	12	0
Anticuerpos IgG anti-EBV (VCA)	7	0
Anticuerpos IgG anti-HSV-1/2	12	0
Anticuerpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	11	0
Anticuerpos IgG anti-hCMV	11	0
Autoanticuerpos anti-nucleares (ANA)	16	0
Anticuerpos anti- <i>Treponema pallidum</i>	8	0
Anticuerpos anti-HAV	11	0
Anticuerpos anti-VIH-1/2	9	0
HBsAg	9	0
Anticuerpos anti HTLV-I/II	11	0
Anticuerpos anti-HCV	8	0
HAMA (anticuerpos humanos anti-ratón)	15	0
Factor reumatoide (inmunoglobulinas anti-Fc)	12	0
Total	163	0

No se obtuvo ningún positivo en las muestras analizadas. Aunque no existen pruebas concluyentes de reactividad cruzada, no se puede descartar a causa de la escasa disponibilidad de ciertas muestras. Los resultados se refieren a los grupos de muestras analizadas y su precisión no está garantizada, dado que pueden existir diferencias entre laboratorios y centros.

Para detectar la presencia de posibles reactivos cruzados en personas infectadas con enfermedades protozoarias relacionadas u otras enfermedades parasitarias, los resultados se compararon con dos métodos de referencia.

Condición	N.º	LIAISON® XL		kit A (lisado)		kit B (lisado)	
		+	%	+	%	+	%
Leishmaniasis	63 ¹	1	1,6%	30 ¹	47,6%	-	-
Leishmaniasis visceral	50	1	2,0%	-	-	30	60,0%
Malaria - estudio 1	50 ²	11 ²	22,0%	13 ²	26,0%	-	-
Malaria - estudio 2	56	2	3,6%	-	-	1	1,8%
Amebiasis	9	0	0,0%	-	-	0	0,0%
Esquistosomiasis	8	0	0,0%	-	-	0	0,0%
Hidatidosis	9	0	0,0%	-	-	0	0,0%
Estrongiloidiasis	10	0	0,0%	-	-	0	0,0%
Toxocaríasis	5	0	0,0%	-	-	0	0,0%
Total	260						

- Se recogieron diez muestras de leishmaniasis supuestamente negativas para anticuerpos anti-*T. cruzi* en países en los que el parásito *T. cruzi* no es endémico (Emiratos Árabes Unidos, Marruecos, Togo y Argelia).
- Once muestras de malaria resultaron reactivas con ambos ensayos y no puede descartarse la coinfección con *T. cruzi*. Las dos muestras restantes que resultaron positivas con el kit A se recogieron en India, donde el parásito *T. cruzi* no es endémico y, por tanto, se consideraron negativas para anticuerpos anti-*T. cruzi*.

15.2. Precisión

Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) se utilizaron muestras con diferentes concentraciones de analito específico. Los resultados se refieren a los grupos de muestras analizadas y su precisión no está garantizada, dado que pueden existir diferencias entre laboratorios y centros.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad interna se analizaron veinte réplicas en la misma serie.

Repetibilidad	A	B	C	D	Control negativo	Control positivo
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	11	4,8	1,1	1,1	0,050	2,2
Desviación estándar (S/CO)	0,22	0,094	0,051	0,047	0,005	0,055
Coefficiente de variación (%)	2,0%	2,0%	4,6%	4,3%	9,5%	2,5%
Valor mín. (S/CO)	11	4,6	1,0	1,0	0,043	2,1
Valor máx. (S/CO)	12	5,0	1,1	1,1	0,061	2,3

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se realizaron veinte determinaciones en días diferentes (una o dos series al día) con tres lotes distintos de integrales. En las pruebas se utilizaron dos instrumentos.

Reproducibilidad - Instrumento 1	A	B	C	E	Control negativo	Control positivo
LOTE N.º 01						
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	14	5,9	1,3	1,3	0,061	3,2
Desviación estándar (S/CO)	1,3	0,60	0,15	0,17	0,013	0,47
Coefficiente de variación (%)	9,5%	10,1%	11,8%	12,8%	20,7%	14,6%
Valor mín. (S/CO)	12	4,8	1,1	1,1	0,041	2,4
Valor máx. (S/CO)	16	6,5	1,5	1,6	0,089	3,9
LOTE N.º 02						
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	13	5,1	1,2	1,3	0,038	1,8
Desviación estándar (S/CO)	0,51	0,19	0,089	0,092	0,005	0,17
Coefficiente de variación (%)	3,9%	3,7%	7,4%	7,1%	12,7%	9,5%
Valor mín. (S/CO)	12	4,7	1,0	1,2	0,031	1,6
Valor máx. (S/CO)	13	5,4	1,3	1,5	0,049	2,1
LOTE N.º 03						
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	12	4,8	1,2	1,2	0,038	1,7
Desviación estándar (S/CO)	0,57	0,24	0,083	0,075	0,005	0,13
Coefficiente de variación (%)	4,8%	5,0%	6,9%	6,3%	12,4%	7,8%
Valor mín. (S/CO)	10	4,3	1,0	1,1	0,030	1,4
Valor máx. (S/CO)	12	5,2	1,3	1,4	0,046	1,9
Coefficiente de variación entre lotes (%)	7,7%	10,8%	4,7%	4,6%	n/d	n/d

Reproducibilidad - Instrumento 2	A	B	C	E	Control negativo	Control positivo
LOTE N.º 01						
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	12	4,9	1,1	1,2	0,047	2,6
Desviación estándar (S/CO)	0,55	0,27	0,085	0,097	0,007	0,14
Coefficiente de variación (%)	4,6%	5,6%	7,7%	8,1%	15,8%	5,4%
Valor mín. (S/CO)	11	4,1	1,0	1,0	0,032	2,3
Valor máx. (S/CO)	13	5,3	1,3	1,3	0,061	2,8
LOTE N.º 02						
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	12	4,8	1,1	1,2	0,030	1,7
Desviación estándar (S/CO)	0,51	0,17	0,083	0,075	0,005	0,13
Coefficiente de variación (%)	4,3%	3,6%	7,6%	6,2%	17,1%	7,9%
Valor mín. (S/CO)	11	4,3	1,0	1,1	0,022	1,5
Valor máx. (S/CO)	12	5,1	1,3	1,4	0,042	1,9
LOTE N.º 03						
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	11	4,5	1,1	1,2	0,031	1,6
Desviación estándar (S/CO)	0,44	0,13	0,070	0,066	0,004	0,11
Coefficiente de variación (%)	4,0%	3,0%	6,3%	5,5%	11,3%	7,0%
Valor mín. (S/CO)	10	4,3	1,0	1,1	0,025	1,4
Valor máx. (S/CO)	11	4,8	1,2	1,3	0,038	1,8
Coefficiente de variación entre lotes (%)	4,9%	4,4%	0,0%	0,0%	n/d	n/d

13041



15.3. Efecto de saturación con altas concentraciones

Cuando se analizan muestras que contienen concentraciones de anticuerpos extremadamente altas, se pueden obtener concentraciones inferiores a las reales por efecto de la saturación. Sin embargo, mediante un método optimizado en dos pasos es posible excluir los resultados muy por debajo de su valor, puesto que la señal analítica permanece siempre alta (curva de saturación).

La presencia de un efecto prozona se ha evaluado analizando seis muestras positivas para anti-*T. cruzi* con alto título. Todas las muestras presentaron señales muy altas, como se espera de las muestras con alto título, lo que indica que su clasificación es correcta.

15.4. Características del resultado del ensayo con muestras cadavéricas

Las características del resultado del ensayo con muestras cadavéricas se han determinado analizando, conforme al protocolo de validación PEI*, muestras post-mortem recogidas hasta 24 horas después de la muerte y comparándolas con muestras de donantes vivos. Se analizaron 20 muestras post-mortem puras y enriquecidas en 2 niveles: positivo bajo y positivo medio/alto. Se siguió el mismo procedimiento con el mismo número de muestras normales de suero humano de donantes vivos, que se analizaron en paralelo como referencia para comparar sus resultados con los de las muestras post-mortem. Para evaluar los resultados obtenidos, se calculó la diferencia porcentual entre la media de los resultados de los donantes vivos y la media de los resultados post-mortem, en cada nivel de reactividad. En este estudio se obtuvo una diferencia porcentual inferior o igual al 1,4% en cada nivel de reactividad del ensayo (consulte la tabla siguiente). Se analizaron pruebas t pareadas de muestras post-mortem y de donantes vivos, enriquecidas en niveles positivos bajos y medios/altos, sin que se constatará ninguna diferencia significativa en dos grupos (valor p inferior a 0,05).

La repetibilidad se evaluó utilizando una muestra post-mortem y otra de donante vivo, enriquecidas hasta un nivel bajo de reactividad con suero humano reactivo para anticuerpos de *T. cruzi*. Se evaluaron seis réplicas de cada muestra en la misma serie. El porcentaje de coeficiente de variación obtenido (CV%) no superó el 15%. Como se señala en la siguiente tabla, en el estudio se detectaron un 1,9% en muestras cadavéricas y un 1,7% en donantes vivos. Los resultados se refieren a los grupos de muestras investigados, y sus especificaciones no está garantizadas debido a las posibles diferencias entre laboratorios y centros.

Muestra	Resultados del ensayo Media (S/CO)	Recuperación (%) post-mortem/ donantes vivos	Prueba t valor p	CV% 6 réplicas
Sin diluir	Post-mortem no enriquecidas	0,05		
	Donantes vivos no enriquecidas	0,03	n/d	n/d
Positivo bajo	Post-mortem enriquecidas	2,95	1,4	1,9
	Donantes vivos enriquecidas	2,91	0,398	1,7
Positivo medio/alto	Post-mortem enriquecidas	4,92		
	Donantes vivos enriquecidas	4,88	0,8	0,447

* Paul Ehrlich Institute - Proposal for the Validation of Anti-HIV-1/2 or HIV Ag/Ab Combination Assays, Anti-HCV-Assays, HBsAg and Anti-HBc Assays for Use with Cadaveric Samples - 08/05/2014

WM ARGENTINA S.A.
MARIA RETES
DIRECTORA TÉCNICA
M. N. 8120

16. VALORES PREVISTOS

16.1. Especificidad diagnóstica

Se realizó un primer estudio en el que se analizó un total de 2.301 muestras de suero recogidas en dos centros de donación de sangre de Europa. Las muestras analizadas eran muestras presumiblemente negativas provenientes de una población no seleccionada de donantes de sangre con prevalencia de infección con *T. cruzi* equivalente a cero. En todo el estudio, el 99,6% (2.291/2.301) de las muestras presumiblemente negativas fue inicialmente no reactivo, el 0,4% (10/2.301) fue inicialmente reactivo y el 0,3% (8/2.301) fue repetidamente reactivo. La especificidad del ensayo LIAISON® XL MUREX Chagas observada en este estudio fue del 99,7% (2.293/2.301), con límites de confianza al 95% del 99,3% al 99,9%.

En el segundo estudio llevado a cabo se analizó un total de 599 muestras de suero recogidas en dos centros de donación de sangre de Latinoamérica. Las muestras analizadas eran muestras presumiblemente negativas provenientes de una población no seleccionada de donantes de sangre con prevalencia de infección con *T. cruzi* equivalente a cero. En todo el estudio, el 99,5% (596/599) de las muestras presumiblemente negativas fue inicialmente no reactivo, el 0,5% (3/599) fue inicialmente reactivo y el 0,5% (3/599) fue repetidamente reactivo.

La especificidad del ensayo LIAISON® XL MUREX Chagas observada en este estudio fue del 99,5% (596/599), con límites de confianza al 95% del 98,5% al 99,9%.

También se analizaron otras muestras seleccionadas de forma aleatoria provenientes de pacientes hospitalizados/diagnosticados y mujeres embarazadas. Los datos de estos estudios están resumidos en la Tabla I (95% CI = intervalo de confianza al 95%). Las muestras positivas han sido confirmadas con un kit de referencia con marca CE.

El ensayo muestra una especificidad diagnóstica superior al 99,0% en una población de pacientes hospitalizados/diagnosticados.

Tabla I - Especificidad diagnóstica

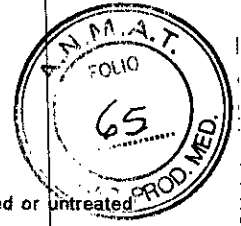
Población	Número de casos	Muestras inicialmente reactivas, n.º	Muestras repetidamente reactivas, n.º	Especificidad diagnóstica, %	Especificidad diagnóstica, 95% CI
Donantes de sangre - Europa	2.301	10	8	99,7 (2.293/2.301)	99,3 - 99,9
Donantes de sangre - Latinoamérica	599	3	3	99,5 (596/599)	98,5 - 99,9
Pacientes hospitalizados/diagnosticados	400	2	2	99,5 (398/400)	98,2 - 99,9
Mujeres embarazadas	200	0	0	100 (200/200)	98,2 - 100

16.2. Sensibilidad diagnóstica

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado analizando un total de 703 muestras reactivas para anticuerpos anti-*T. cruzi*, dando como resultado una sensibilidad del 99,1% (697/703), intervalo de confianza al 95%: 98,2-99,7%.

Las muestras se recogieron en varios países: Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, El Salvador, Guatemala, México, Nicaragua, Paraguay y Perú.

13041



REFERENCES

R. L. HOUGHTON et al.
 Multi-epitope synthetic peptide and recombinant protein for the detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in patients with treated or untreated Chagas' disease.
J Infect Dis. **181** : 325 (2000).

R. L. HOUGHTON et al.
 Lateral Flow Immunoassay for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection with High correlation to the Radioimmunoprecipitation assay
Clinical and Vaccine Immunology, **16** (4) : 515 (2009).

R. M. SOUZA and V. AMATO NETO
 Discrepancies and consequences of indirect hemagglutination, indirect immunofluorescence and ELISA tests for the diagnosis of Chagas disease.
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, **54** (3) : 141 (2012).

I. S. MARCIPAR and C. M. LAGIER
 Advances in serological diagnosis of Chagas' disease by using recombinant proteins.
 Available from: <http://www.intechopen.com/books/current-topics-in-tropical-medicine/advances-in-serological-diagnosis-of-chagas-disease-by-using-recombinant-proteins>.

Z. C. CABALLERO et al.
 Evaluation of Serological Tests To Identify *Trypanosoma cruzi* Infection in Humans and Determine Cross-Reactivity with *Trypanosoma rangeli* and *Leishmania* spp.
Clinical and Vaccine Immunology, Aug., p. Vol. **14** (8): 1045 (2007).

B. A. NOYA et al.
 The performance of laboratory tests in the management of a large outbreak of orally transmitted Chagas disease.
Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, **107** (7): 893 (2012).

M.D. FLORES-CHAVEZ et al.
 Surveillance of Chagas disease in pregnant women in Madrid, Spain, from 2008 to 2010.
Euro Surveill. **16** (38) 1 (2011).
 Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19974>

G. A. SCHMUNIS
 Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration.
Mem Inst Oswaldo Cruz. **102** (1) : 75 (2007).

M. M. OTANI et al.
 WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease.
Transfusion **49** (6) : 1076 (2009).

WHO Consultation on International Biological Reference Preparations for Chagas Diagnostic Tests
 WHO, Geneva, 2-3 July 2007
 Available online: http://www.who.int/bloodproducts/ref_materials/WHO_Report_1st_Chagas_BRP_consultation_7-2007_final.pdf

ECDC
 Special edition: Chagas disease in Europe.
Euro Surveill. **16** (37) 1 (2011).
 Available online: <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/ES/V14N01/V14N01.pdf>

200/007-040, 04 - 2016-03



WM ARGENTINA S.A.
 MARIA FRETES
 DIRECTORA TÉCNICA
 M. N. 8120