



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

DISPOSICIÓN N° **17084**

BUENOS AIRES **31 ENE 2017**

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-407/16-1 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 modificación del producto diagnóstico de uso "in Vitro" denominado LIASON C. difficile GDH, autorizado por Certificado N° 008079.

Que a fojas 66 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

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase a la firma WM ARGENTINA S.A. la modificación de vida útil de uso del producto para Diagnóstico de uso In Vitro denominado LIASON C.



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

DISPOSICIÓN N° 1084

difficile GDH que en lo sucesivo será de DOCE(12) meses conservado entre 2-8°C y la ampliación de uso con el instrumento LIAISON XL ANALYZER.

ARTÍCULO 2º.- Acéptense los nuevos proyectos de Manual de Instrucciones a fojas 24 a 35 y 67 a 72 . Desglosándose las fojas 67 a 72, donde deberán constar las modificaciones descriptas en el artículo 1º precedente.

ARTICULO 3º.- Practíquese la atestación correspondiente en el Certificado n° 008079, 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°: 1-47-3110-407/16-1

DISPOSICIÓN N°:

1084

fd

Handwritten mark

Handwritten signature
DR. ROBERTO LEÓN
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

DiaSorin

DiaSorin Inc
1951 Northwestern Ave – Stillwater, MN 55082 – EE. UU.
Tel +1.651.439.9710 – Fax +1.651.351.5669

1084

31 ENE 2017



Modificaciones: § 1, 4, 6, 7, 10, 12, 13, 14, 16, 18
Supresiones: § 4, 10, 12, 18, 19

LIAISON® C. difficile GDH (REF 318910)

1. INDICACIONES

El LIAISON® C. difficile GDH Assay de DiaSorin es un inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) indicado para su uso como ensayo de cribado para la detección de antígeno de *Clostridium difficile*, glutamato deshidrogenasa, en heces humanas de personas sospechosas de enfermedad causada por *C. difficile*. Este ensayo no distingue entre cepas de *C. difficile* toxicogénicas y no toxicogénicas. Los resultados del ensayo deben utilizarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio para ayudar al médico a decidir el tratamiento que debe aplicarse a cada paciente. El ensayo debe realizarse en el analizador LIAISON® Analyzer Family*.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

Clostridium difficile es un bacilo anaerobio, gram-positivo, formador de esporas y una de las causas principales de las diarreas y colitis asociadas al uso de antibióticos. Es el agente patógeno causal de la mayoría de casos de colitis pseudomembranosa. La patología asociada al *Clostridium difficile* (CDAD por sus siglas en inglés) puede comprender desde diarreas sin complicaciones a sepsis, llegando incluso a causar la muerte¹. *C. difficile* está reconocido como la causa principal de colitis adquirida en el hospital en pacientes colonizados por *C. difficile* a los que se ha administrado antibióticos, quimioterapia u otros fármacos que alteran la flora normal y permiten la proliferación de cepas toxicogénicas *C. difficile*². La infección por *C. difficile* es una enfermedad nosocomial a cuya propagación contribuyen principalmente las prácticas higiénicas del personal sanitario y es bastante común² como epidemia hospitalaria. El modo de transmisión principal es a través de la ruta fecal-oral por ingestión de la bacteria o de las esporas bacterianas procedentes de superficies contaminadas.

El ensayo *C. difficile* glutamato deshidrogenasa (GDH) es altamente sensible a la presencia de la bacteria *C. difficile*, debido a la prevalencia y estabilidad de GDH en las heces. No obstante, los análisis de GDH carecen de especificidad para determinar las cepas productoras de toxinas patógenas de *C. difficile*, ya que detectan la presencia de cepas de *C. difficile* tanto toxicogénicas como no toxicogénicas. Por esta razón, GDH recibe también el nombre de *antígeno común*, puesto que todas las cepas de la bacteria *C. difficile* son productoras de GDH. GDH es una enzima hexamérica responsable de la aminación de α -cetoglutarato en glutamato y de la desaminación oxidativa inversa del glutamato³. Estas enzimas desempeñan un papel fundamental en la fermentación del glutamato llevada a cabo por estos anaerobios, un proceso necesario para la producción de energía.

3. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El LIAISON® C. difficile GDH es un ensayo de un solo paso, tipo sándwich con dos anticuerpos para la detección de GDH. El ensayo utiliza un anticuerpo monoclonal para la captura, y un anticuerpo policlonal para la detección de la molécula de GDH. El ensayo utiliza 100 μ L de muestra formada por una mezcla de diluyente de muestras y GDH fecal extraído e incubado con partículas paramagnéticas revestidas con un anticuerpo de captura para GDH y un anticuerpo conjugado de isoluminol para GDH. Tras la incubación, el material no unido se elimina mediante un ciclo de lavado. A continuación se agregan los reactivos de iniciador y tiene lugar una reacción quimioluminiscente rápida. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador en RLU (relative light unit, unidad relativa de luz) y es proporcional a la concentración de GDH presente en los calibradores, los controles o las muestras.

4. MATERIAL SUMINISTRADO

Integral de reactivos

Partículas magnéticas (2,4 mL)	SORB	Partículas magnéticas revestidas con anticuerpo monoclonal anti-GDH, en tampón fosfato, ASB, surfactante, ProClin® 300 al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,05%.
Conjugado (13,0 mL)	CONJ	Anticuerpo policlonal anti-GDH conjugado en un derivado de isoluminol, en tampón fosfato, ASB, surfactante, ProClin® 300 al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,05%.
Número de pruebas	100	

ProClin® 300 es una marca comercial registrada de Rohm and Haas Co.

Todos los reactivos suministrados están listos para su uso. El orden de los reactivos refleja la disposición de los contenedores en el integral de reactivos.

*(LIAISON® and LIAISON® XL)

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

Componentes adicionales que no forman parte del integral de reactivos

Calibrador 1 3 x 1 mL	CAL1 liofilizado	GDH, tampón fosfato, surfactante, ASB, ProClin® 300 al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,05%. Reconstituya en 1 mL de agua destilada o desionizada.
Calibrador 2 3 x 1 mL	CAL2 liofilizado	GDH, tampón fosfato, surfactante, ASB, ProClin® 300 al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,05%. Reconstituya en 1 mL de agua destilada o desionizada.
Diluyente de muestras 1 x 80 mL	DILSPE	Suero de cabra, tampón Tris, surfactante, ProClin® 300 al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,05%. Una vez abierto, el diluyente de muestras es estable durante 10 semanas si se almacena a 2-8 °C.
2 x 50 cada uno	PIPETTOR	Pipeta para heces líquidas (X0031)
LIAISON® Stool Extraction Device* 2 x 50 cada uno	TUBES FILTERS CAPS	Tubos cónicos y para mezclas en polipropileno con tapón azul, con unidad de filtro azul en polietileno de alta densidad (PEAD).

*El dispositivo no contiene Bisfenol A (BPA), látex ni Di(2-etilhexil)ftalato (DEHP).

Materiales necesarios pero no suministrados (relacionados con el sistema)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)
LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)	LIAISON® Waste Bags (REF 450003)
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016)	LIAISON® Module (REF 319130)
LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Starter Kit (REF 319102)
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)
	LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)
	LIAISON® Light Check 12 (REF 319150)

Materiales adicionales recomendados

LIAISON® C. difficile GDH Control Set (REF 318911)
LIAISON® C. difficile Sample Diluent (REF 318990)

Suministros de laboratorio opcionales disponibles en DiaSorin

Pipeta para heces líquidas (REF X0031)
--

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

SOLO PARA UTILIZAR EN DIAGNÓSTICOS *IN VITRO* – No debe destinarse al uso interno o externo en seres humanos ni animales.

SEGURIDAD GENERAL:

- Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales utilizados en el ensayo deben ser considerados como transmisores potenciales de agentes infecciosos. Evite el contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas. El ensayo debe realizarse respetando escrupulosamente las buenas prácticas higiénicas industriales.
- Absténgase de comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el laboratorio de ensayos.
- No pipetee las soluciones con la boca.
- Evite el contacto directo con todos los materiales potencialmente infecciosos; para ello se aconseja utilizar batas de laboratorio, mascarillas y protectores oculares, además de guantes desechables.
- Lávese las manos a fondo después de cada ensayo.
- Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles cuando manipule, diluya o transfiera muestras o reactivos. Los reactivos derramados deben descontaminarse con una solución de lejía al 10% (hipoclorito sódico al 0,5%) y eliminarse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.
- La eliminación de los residuos debe efectuarse de conformidad con las disposiciones y normas generales establecidas por las autoridades con jurisdicción sobre el laboratorio, y con las leyes vigentes en cada país.
- No utilice ningún kit o componente después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

E.

1084

RIESGO QUÍMICO E INFORMACIÓN DE SEGURIDAD: Los reactivos de este kit se han clasificado de conformidad con lo establecido en la Norma de Comunicación de Riesgos (Hazard Communication Standard) de OSHA en Estados Unidos, las leyes de derecho a la información (Right-to-Know) estatales de Estados Unidos, las normas reguladoras de Productos Controlados, Seguridad y Salud Ocupacional (Occupational Health and Safety Controlled Products) centrales canadienses y las directivas de la Unión Europea que sean aplicables en cada caso (consulte las fichas de datos de seguridad del material para obtener información adicional).

GHS/CLP:

	ProClin®
CAS No.:	55965-84-9
Reactivos:	SORB CONJ CAL1 CAL2 DILSPE
Clasificación:	Sensibilización cutánea, categoría 1
Palabrade advertencia:	Atención
Pictogramas:	 GHS07 – Signo de exclamación
Indicación de peligro:	H317 – Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
Consejos de prudencia:	P261 – Evitar respirar la niebla/ el aerosol. P272 – Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280 – Llevar guantes/ prendas/ gafas de protección.

6. PREPARACIÓN DEL INTEGRAL DE REACTIVOS

A la hora de manipular los reactivos, tenga en cuenta las siguientes precauciones importantes:

Resuspensión de partículas magnéticas

Antes de colocar el integral en el instrumento, debe lograr la completa resuspensión de las partículas magnéticas. Para ello, siga las instrucciones que se indican a continuación:

Antes de quitar el sello, gire la rueda pequeña del compartimento de partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte un color marrón. Agite horizontalmente el integral de reactivos con delicadeza y sumo cuidado para facilitar la suspensión de las partículas magnéticas (evite la formación de espuma). Compruebe visualmente el fondo del frasco de partículas magnéticas para cerciorarse de que no hayan quedado partículas magnéticas sedimentadas. Repita el procedimiento las veces que sean necesarias hasta que las partículas magnéticas estén completamente resuspendidas. Después de quitar el precinto, limpie cuidadosamente la superficie de cada pared para eliminar los posibles restos de líquido, si fuera necesario.

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 utilizar el integral, examine visualmente los reactivos para asegurarse de que no presentan espuma. Si hay espuma después de la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que la espuma se disipe. El integral estará listo para su uso cuando la espuma haya desaparecido y el integral haya permanecido mezclándose en el instrumento.

Carga del integral en el área de reactivos

LIAISON® Analyzer

- Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta de código de barras orientada a la izquierda y espere 30 minutos antes de utilizarlo. El analizador agita automáticamente las partículas magnéticas hasta su total resuspensión.
- Consulte el manual del usuario del analizador para cargar las muestras y comenzar el ensayo.

LIAISON® XL Analyzer

- El LIAISON® XL Analyzer incorpora un dispositivo magnético de estado sólido 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. Inserte el integral de reactivos en la ranura específica.
 - b. Deje el integral de reactivos en el dispositivo magnético de estado sólido durante 30 segundos como mínimo (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. El analizador agita automáticamente las partículas magnéticas hasta su total resuspensión.
- Siga las instrucciones del manual del usuario del analizador para cargar las muestras e iniciar el ensayo.

7. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL INTEGRAL DE REACTIVOS

A su recepción, almacene el integral de reactivos en posición vertical para facilitar la resuspensión de las partículas magnéticas. Si el integral de reactivos se almacena sin abrir, los reactivos permanecen estables a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. No lo congele. El integral de reactivos no debe utilizarse después de la fecha de caducidad indicada en el kit y en las etiquetas correspondientes. Una vez abiertos, los integrales se pueden guardar en la caja del kit a 2-8 °C y en posición vertical, o en el instrumento LIAISON® Analyzer. Si se guardan correctamente, los integrales abiertos mantienen su estabilidad de uso durante 8 semanas. Consulte los intervalos de calibración en la sección 11.

8. OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Recoja las muestras de heces en un recipiente limpio, hermético y sin conservantes. Tras la recepción, las muestras deben guardarse a 2-8 °C y analizarse lo antes posible; no obstante, pueden almacenarse a una temperatura de 2-8 °C hasta un tiempo máximo de 72 horas. Si no fuera posible analizarlas antes de las 72 horas, congele las muestras a -20 °C o menos inmediatamente después de recibir las muestras. Antes de utilizarlas, deje las muestras de heces a temperatura ambiente y mézclelas tan a fondo como sea posible. Las muestras fecales son estables durante 2 ciclos de congelación/descongelación.

9. ALMACENAMIENTO DE EXTRACTOS DE MUESTRAS

Los extractos de las muestras fecales son estables durante un mínimo de 4 horas a temperatura ambiente (18-25 °C) o de 24 horas a 2-8 °C antes del ensayo. Los extractos de muestras fecales se pueden almacenar a largo plazo durante un máximo de 4 semanas a -20 °C o menos. Evite ciclos repetidos de congelación y descongelación.

Antes de almacenarlo en un refrigerador o congelador a largo plazo o durante el transporte, el extracto no debe presentar restos visibles en el fondo del tubo cónico. Transfiera el extracto a otro tubo para muestras evitando que los restos visibles del fondo del tubo cónico se mezclen con el extracto.

10. CALIBRADORES DE NIVEL 1 y 2

Los calibradores del ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH se suministran liofilizados. Reconstituya cada vial con 1,0 mL de agua destilada o desionizada. Deje reposar los viales a temperatura ambiente durante 5 minutos. Mezcle bien mediante inversión suave y durante 5 minutos como mínimo para garantizar su total reconstitución. Transfiera todo el volumen a un tubo de vidrio o plástico para muestras. Adhiera al tubo la etiqueta de código de barras que corresponda, inserte el tubo en una gradilla del tamaño apropiado y colóquelo en el analizador. calibre el ensayo como se describe en el manual del operador. Los calibradores LIAISON® *C. difficile* GDH han demostrado ser estables durante 2 horas cuando se almacenan a temperatura ambiente (18-25 °C). El volumen del calibrador contenido en el tubo para muestras es suficiente para 2 calibraciones, si se utiliza en el plazo de 2 horas (se necesitan 300 µL para cada calibración por triplicado y 300 µL de volumen muerto).

El número de lote de los calibradores y del integral de reactivos corresponde a un lote específico. No utilice calibradores asociados con un lote de reactivos diferente en el mismo ensayo.

LIAISON® Analyzer:

Transfiera el frasco a la gradilla "A" del LIAISON® Analyzer con el código de barras mirando hacia fuera y deslice la gradilla en la del área de muestras del instrumento LIAISON® Analyzer.

LIAISON® XL Analyzer:

Transfiera el frasco a la gradilla "A" del LIAISON® XL Analyzer con el código de barras mirando hacia fuera y deslice la gradilla en la del área de muestras del instrumento LIAISON® XL Analyzer.

11. CALIBRACIÓN

Cada integral de reactivos LIAISON® *C. difficile* GDH lleva una etiqueta de código de barras con información específica sobre la calibración del lote del integral de que se trate. La calibración debe repetirse:

- con cada nuevo lote de reactivos (integral de reactivos o reactivos de iniciador)
- cada 21 días si se guarda conforme a las instrucciones de la sección 7
- después de cada tarea de reparación o mantenimiento del analizador
- si los resultados del control de calidad quedan fuera del rango aceptable

12. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Utilice el dispositivo de extracción de heces LIAISON® Stool Extraction Device de DiaSorin

La cantidad de muestra y de diluyente de muestras que se va a utilizar debe determinarse a partir de los datos de la Tabla 1 y de los diagramas siguientes, dependiendo de si el sobrenadante de heces se va a analizar una o dos veces.

1. Añada diluyente de muestras LIAISON® *C. difficile* Sample Diluent a un tubo para mezclas del LIAISON® Stool Extraction Device conforme a lo indicado en la Tabla 1.
2. Preparación de las heces: Mezcle el contenido tan a fondo como sea posible antes de retirar la muestra.
 - a. **Heces líquidas o semisólidas:** Utilizando una pipeta para heces líquidas desechable, mida y transfiera el volumen de muestra de heces (consulte la Tabla 1) al tubo para mezclas del LIAISON® Stool Extraction Device que contenga el diluyente de muestras. Enjuague la pipeta con la mezcla en suspensión las veces que sean necesarias para eliminar la mayor cantidad de muestra posible de la pipeta para heces líquidas.

NOTA: Si no fuera posible disponer de 750 μL de heces líquidas o semisólidas para un análisis, se puede utilizar una muestra de heces diluida en diluyente de muestras al 1:1. (Ejemplo: 400 μL de muestra de heces líquidas o semisólidas en 400 μL de diluyente de muestras). Para poder realizar el ensayo mediante un único análisis, el volumen del sobrenadante final debe ser de 400 μL .

- b. **Heces sólidas:** Utilizando la cuchara de la unidad de filtro cónico del LIAISON[®] Stool Extraction Device o un dispositivo similar, mida y transfiera la muestra de heces (consulte la Tabla 1 o los diagramas siguientes) al tubo para mezclas que contenga el diluyente de muestras LIAISON[®] C. *difficile* sample diluent. Para garantizar que el gránulo sólido de la cuchara se ha eliminado en el diluyente de muestras, examine la cuchara del dispositivo de extracción de heces tras efectuar la mezcla en el agitador vórtex (paso 4); si no se ha eliminado, golpee ligeramente la parte inferior del dispositivo colocado en el banco de ensayo para facilitar el desprendimiento de las heces. Este paso puede repetirse tantas veces como resulte necesario. Es posible que necesite utilizar un dispositivo alternativo para traspasar las muestras de heces muy duras al diluyente de muestras del tubo para mezclas.

Un análisis

Dos análisis



3. Enrosque bien la unidad de filtro cónico azul en el tubo para mezclas.
4. Agite vigorosamente en vórtex durante 20 segundos para mezclar la muestra a fondo.
5. Centrifugue el tubo en una centrifuga de cubeta oscilante, a una velocidad aproximada de 2.000 x g*, durante 10 minutos y a temperatura ambiente, con el extremo cónico del tubo mirando hacia arriba.
6. Tras la centrifugación, retire el tubo e invierta el LIAISON[®] Stool Extraction Device de forma que el tubo cónico quede mirando hacia abajo. Centrifugue el tubo a una velocidad aproximada de 200 x g* durante 1 minuto. El dispositivo debe permanecer ahora en posición vertical.
7. Desensrosque el tubo para mezclas y el dispositivo de filtro azul y elimínelos en un recipiente apropiado para desechos biológicos.
Examine el sobrenadante líquido del tubo cónico; el sobrenadante de la muestra puede aparecer turbio, pero no debe presentar restos ni burbujas visibles.
8. Coloque el tubo cónico en una gradilla para muestras de tipo "S" del LIAISON[®] analyzer o en una gradilla para muestras de tipo "H" con adaptador del LIAISON[®] XL analyzer. Cargue la gradilla en el analizador para su análisis.
9. Limpie el área de trabajo con una solución de lejía al 10% (hipoclorito sódico al 0,5%).

Tabla 1

Número de análisis necesarios	Volumen de diluyente de muestras	Volumen de muestra de heces líquidas	Diámetro de muestra de heces sólidas
Uno	750 μL	750 μL	5 mm o Diagrama de un análisis
Dos	1,0 mL	1,0 mL	7,5 mm o Diagrama de dos análisis

Al final de las instrucciones de uso se incluyen diagramas que ilustran el procedimiento de preparación de muestras de heces con el LIAISON[®] Stool Extraction Device de DiaSorin.

13. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Para asegurar el resultado correcto del ensayo, siga estrictamente las instrucciones de funcionamiento del analizador.

LIAISON[®] Analyzer: Cada parámetro del ensayo se identifica con un código de barras en el integral de reactivos. Si el analizador 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 del analizador son las siguientes:

1. Dispensar los calibradores, los controles o las muestras en el módulo de reacción.
2. Dispensar el conjugado y las partículas magnéticas revestidas en el módulo de reacción.
3. Incubar.
4. Lavar con líquido de lavado/sistema.
5. Añadir los reactivos de iniciador y medir la emisión de luz.

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

$$*g = (1.118 \times 10^{-8}) (\text{radio en cm}) (\text{rpm})^2$$

LIAISON® XL Analyzer: 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 RFID, 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 del analizador son las siguientes:

1. Dispensar el conjugado y las partículas magnéticas revestidas en el módulo de reacción.
2. Dispensar los calibradores, los controles o las muestras en el módulo de reacción.
3. Mezclar, Incubar.
4. Lavar con líquido de lavado/sistema.
5. Añadir los reactivos de iniciador y medir la emisión de luz.

Los resultados del inmunoensayo pueden verse afectados por las fluctuaciones de temperatura. Los usuarios deben tener en cuenta las variaciones de temperatura en el entorno del laboratorio; puede ser necesario realizar controles y efectuar las recalibraciones subsiguientes con más frecuencia.

14. CONTROL DE CALIDAD

Es necesario realizar el control de calidad cada día de trabajo o conforme a lo estipulado en las normas y los requisitos de los reglamentos locales o de las entidades acreditadas. Se recomienda consultar la documentación C24-A3⁴ de CLSI y 42 CFR 493.1256 (c) para conocer las prácticas de control de calidad adecuadas.

El LIAISON® C. *difficile* GDH Control Set (318911) es un juego de control indicado para detectar cualquier síntoma importante de deterioro del reactivo. Los controles LIAISON® deben analizarse individualmente para determinar la eficacia del ensayo. El ensayo será válido si los valores de control quedan dentro de los rangos previstos en el certificado de análisis. Siempre que los resultados de control queden fuera de los rangos previstos, será necesario repetir la calibración y volver a analizar los controles y las muestras. Los resultados de los pacientes solo se notifican cuando los resultados del control quedan dentro de los rangos esperados.

Antes de utilizar otros controles, es preciso evaluar su eficacia para comprobar su compatibilidad con este ensayo. Deberán establecerse rangos de valores apropiados para todos los materiales de control de calidad utilizados.

El rango de las concentraciones de cada control se indica en el certificado de análisis (Certificate of Analysis) y detalla los límites establecidos por DiaSorin para los valores de control que pueden obtenerse con cada serie de ensayos fiable.

15. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El Analyzer calcula automáticamente los niveles de C. *difficile* GDH expresados como valores de índice y clasifica los resultados. Para obtener más información, consulte el manual del operador del analizador.

El punto de corte del ensayo LIAISON® C. *difficile* GDH se determinó a partir de los resultados de muestras de ensayos que representaban poblaciones de pacientes con resultados negativos y positivos para C. *difficile* GDH.

Las muestras se analizaron en paralelo con un cultivo de C. *difficile*, utilizando un ensayo GDH de C. *difficile* comercial y el ensayo LIAISON® C. *difficile* GDH.

El valor de corte que discrimina entre la presencia y la ausencia de GDH de C. *difficile* se ha establecido para que tenga un valor de índice de 1,0.

Advertencia: Si el resultado de la muestra presenta un mensaje "invalid RLU" y un signo de exclamación de cierre (!), significa que el resultado obtenido queda por debajo del rango de señales del ensayo. En tal caso, será necesario volver a analizar la muestra. Si el ensayo posterior de la muestra vuelve a indicar "invalid RLU", póngase en contacto con el Servicio técnico de DiaSorin.

Los resultados del paciente deben interpretarse como se indica a continuación:

Índice	Resultado	Interpretación
≤ 0,90	Negativo	Indica la ausencia de GDH (o bien que el nivel de GDH es inferior al que puede detectar el ensayo)
> 0,90 y < 1,10	Dudoso	Las muestras con resultado dudoso deben analizarse de nuevo con una nueva extracción de la muestra original a fin de confirmar el resultado inicial. Las muestras que dan positivo (≥ 1,10) en el segundo ensayo deben considerarse como positivas. Las muestras que dan negativo (≤ 0,90) en el segundo ensayo deben considerarse como negativas. Para muestras con resultado dudoso en el ensayo repetido, será necesario recoger y procesar muestras nuevas.
≥ 1,10	Positivo	Indica la presencia de GDH de C. <i>difficile</i> dentro del rango de detección.

1084



16. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Los resultados del ensayo deben utilizarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio para ayudar al médico a decidir el tratamiento que debe aplicarse a cada paciente.
2. Para obtener resultados fiables son imprescindibles una técnica experta y el estricto cumplimiento de las instrucciones.
3. Un resultado positivo no define la existencia de enfermedad por *C. difficile* ni la presencia de *C. difficile* toxicogénica, sino que se limita a indicar la presencia del organismo. Todos los resultados del LIAISON® *C. difficile* GDH que hayan dado positivo en heces deben analizarse con otro método para comprobar la presencia de *C. difficile* toxicogénica.
4. Se han encontrado reacciones cruzadas inmunes específicas con el organismo de *C. sporogenes*. No obstante, la presencia de *C. sporogenes* en heces tiene una incidencia baja.
5. Los ciclos repetidos de congelación y descongelación pueden afectar a los resultados del ensayo.
6. El ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH no ha sido evaluado con población pediátrica.
7. No utilice muestras de heces conservadas en formalina al 10%, merthiolate formalina, acetato de sodio formalina o alcohol polivinílico, ni muestras contenidas en medios de transporte como Cary Blair o C&S.
8. Los integrales no se deben intercambiar entre diferentes tipos de analizadores (LIAISON® y LIAISON® XL). Después de introducir un integral en uno de los instrumentos, deberá usarse siempre en él hasta que se haya acabado.
9. Debido a los problemas de trazabilidad resultantes de la indicación anterior, los seguimientos del paciente no podrán efectuarse entre diferentes tipos de analizadores. Estos deben realizarse en un analizador en concreto (LIAISON® o LIAISON® XL).

17. VALORES PREVISTOS

La frecuencia de diarrea asociada al uso de antibióticos causada por *C. difficile* depende de diversos factores, entre otros: población de pacientes, tipo de institución y epidemiología. La incidencia de infecciones de *C. difficile* registrada en Europa durante 2008 varía según los hospitales (con una media de 5,5 casos por cada 10.000 pacientes y con un rango de 0 a 36,3 días) y los países objeto del informe (intervalo de 0 a 19,1)⁵. En Estados Unidos, la incidencia de diarrea asociada con *C. difficile* en pacientes sospechosos de diarrea nosocomial asociada al uso de antibióticos e indicada en los informes es del 15-25%⁶, si bien algunos centros pueden ofrecer porcentajes de positividad que queden fuera de este rango.

18. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL RESULTADO

18.1 Método comparativo:

Se analizaron un total de 200 muestras clínicas con el ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH y con un cultivo de *C. difficile*. Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

LIAISON® <i>C. difficile</i> GDH	Comparador <i>C. difficile</i> Cultivo		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	111	1	112
Dudoso	0	0	0
Negativo	1	87	88
Total	112	88	200

Coincidencia de positivos = (111/112) 99,1% 95% CI (95,2 – 99,8%)
 Coincidencia de negativos = (87/88) 98,9% 95% CI (93,9 – 99,7%)
 Coincidencia general = (198/200) 99,0% 95% CI (96,5 – 99,7%)

Se analizaron un total de 200 muestras clínicas con el LIAISON® *C. difficile* GDH y con un ensayo ELISA de GDH *C. difficile*. Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

LIAISON® <i>C. difficile</i> GDH	Comparador <i>C. difficile</i> ELISA de GDH		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	109	3	112
Dudoso	0	0	0
Negativo	0	88	88
Total	109	91	200

Coincidencia de positivos = (109/109) 100% 95% CI (96,7 – 100%)
 Coincidencia de negativos = (88/91) 96,7% 95% CI (90,8 – 98,8%)
 Coincidencia general = (197/200) 98,5% 95% CI (95,7 – 99,5%)

WM ARGENTINA S.A.
 MARIA FRETES
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.N. 0120

18.2 Precisión:

LIAISON® Analyzer: Dos kits de control y 6 muestras basadas en tampón enriquecido se prepararon y analizaron en DiaSorin Inc. dos veces al día y por duplicado, durante doce (12) días de trabajo en un analizador LIAISON® Analyzer, por 2 técnicos que utilizaron un lote de reactivos para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH. Las muestras se prepararon conforme a los niveles siguientes: 2 negativos, 1 muestra de corte, 3 positivos. El ensayo se evaluó según el EP5-A2 de CLSI.⁷

Repetibilidad

Muestra	Neg. KC	Pos. KC	1	2	3	4	5	6
Número de determinaciones	48	48	48	48	48	48	48	48
Media (Índice)	0,12	4,51	0,14	0,88	1,11	1,35	12,8	25,3
Desviación estándar (Índice)	0,0159	0,17	0,0104	0,041	0,058	0,058	0,60	0,99
Coefficiente de variación (%CV)	13,0	3,8	7,5	4,7	5,2	4,3	4,7	3,9

Reproducibilidad

Muestra	Neg. KC	Pos. KC	1	2	3	4	5	6
Número de determinaciones	48	48	48	48	48	48	48	48
Media (Índice)	0,12	4,51	0,14	0,88	1,11	1,35	12,8	25,3
Desviación estándar (Índice)	0,0165	0,21	0,0223	0,051	0,071	0,075	0,76	1,36
Coefficiente de variación (%CV)	13,4	4,7	16,2	5,8	6,4	5,6	5,9	5,4

LIAISON® XL Analyzer: Dos kits de control y 6 muestras basadas en tampón enriquecido se prepararon y analizaron en DiaSorin Inc. dos veces al día y por duplicado, durante doce (12) días de trabajo en un analizador LIAISON® XL Analyzer, por 2 técnicos que utilizaron un lote de reactivos para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH. Las muestras se prepararon conforme a los niveles siguientes: 2 negativos, 1 muestra de corte, 3 positivos. El ensayo se evaluó según el EP5-A2 de CLSI.⁷

Repetibilidad

Muestra	Neg. KC	Pos. KC	1	2	3	4	5	6
Número de determinaciones	48	48	48	48	48	48	48	48
Media (Índice)	0,14	4,52	0,15	0,74	0,86	1,11	12,1	26,3
Desviación estándar (Índice)	0,01	0,15	0,02	0,02	0,03	0,04	0,23	0,83
Coefficiente de variación (%CV)	7,3	3,3	10,0	3,2	4,0	3,5	1,9	3,2

Reproducibilidad

Muestra	Neg. KC	Pos. KC	1	2	3	4	5	6
Número de determinaciones	48	48	48	48	48	48	48	48
Media (Índice)	0,14	4,52	0,15	0,74	0,86	1,11	12,1	26,3
Desviación estándar (Índice)	0,02	0,27	0,02	0,04	0,05	0,06	0,85	1,96
Coefficiente de variación (%CV)	11,8	5,9	13,7	5,7	6,0	5,0	7,0	7,5

18.3 Límite de detección (LoD)

Según el método EP12-A2 de CLSI⁸, el límite de detección para GDH es de 220 pg/mL, en el ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH.

18.4 Efecto de gancho a concentraciones altas:

No se ha observado efecto de gancho para concentraciones altas (High Dose Hook Effect) de GDH medidas de hasta 2000 ng/mL.

108



18.5 Sustancias interferentes: Estudios controlados de las sustancias potencialmente interferentes añadidas a muestras de heces con niveles positivos bajos y negativos altos no presentaron interferencias con el ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH a las concentraciones de cada sustancia indicadas en la lista siguiente.

Sustancia	Concentración probada
Hemoglobina	3,2 mg/mL
Sangre entera	25%
Glóbulos blancos	5%
Sulfato de bario	5,0 mg/mL
Ácido esteárico	2,65 mg/mL
Ácido palmítico	1,3 mg/mL
Mucina	3,33 mg/mL
Metronidazol	12,5 mg/mL
Clorhidrato de vancomicina	2,5 mg/mL
Imodium AD®	6,67 x 10 ⁻³ mg/mL
Subsilicilato de bismuto	0,87 mg/mL
Pepto Bismol®	0,87 mg/mL
Prilosec®	0,5 mg/mL
Gas-X®	0,625 mg/mL
Tums®	0,5 mg/mL
Cimetidina	0,5 mg/mL
Maalox®	4,2 mg/mL
MiraLAX®	79,05 mg/mL
Glicol de polietileno 4600	79,05 mg/mL

C

[Handwritten signature]

WM ARGENTINA S.A.
 MARIA FRETES
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 6120

[Handwritten signature]

18.6 Reactividad cruzada

La especificidad del ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH se ha determinado mediante el análisis de los microorganismos siguientes. Las muestras de heces con niveles positivos bajos y negativos altos se enriquecieron con cada uno de los microorganismos y se analizaron posteriormente con el ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH. El único microorganismo no *C. difficile* reactivo con el ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH fue *Clostridium sporogenes* que, por lo general, no suele encontrarse en las heces.

Todos los demás organismos no mostraron interferencias cuando se añadieron a las muestras de heces con niveles positivos bajos y negativos altos.

Microorganismo (en orden alfabético)	Concentración final de variante en la muestra	Microorganismo (en orden alfabético)	Concentración final de variante en la muestra
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Porphyromonas assaccharolytica</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Campylobacter coli</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Campylobacter fetus</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Candida albicans</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Salmonella</i> Grupo B	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Citrobacter freundii</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Salmonella</i> Grupo C	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo A	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Salmonella</i> Grupo D	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo B	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Salmonella</i> Grupo E	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo D	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Serratia liquefaciens</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo E	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Shigella boydii</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium sordellii</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Shigella flexneri</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium sporogenes</i> *	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Shigella sonnei</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan)	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Escherichia fergusonii</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Escherichia hermannii</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Yersinia enterocolitica</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Helicobacter pylori</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	Adenovirus tipo 40	1 x 10 ^{5,80} DICT ₅₀ /mL
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	Adenovirus tipo 41	1 x 10 ^{5,40} DICT ₅₀ /mL
<i>Lactobacillus lactis</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	Coxsackievirus	1 x 10 ^{5,30} DICT ₅₀ /mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	Echovirus	1 x 10 ^{5,30} DICT ₅₀ /mL
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL	Rotavirus	1 x 10 ^{5,20} DICT ₅₀ /mL
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1,2 x 10 ⁸ UFC/mL		

*Reactividad cruzada positiva

18.7 Reactividad de la cepa

La reactividad de la cepa *Clostridium difficile* se determinó enriqueciendo una muestra de heces negativa con cada una de las cepas de *C. difficile* siguientes, a una concentración de 5,7 x 10⁷ UFC/mL, y analizándolas posteriormente con el ensayo LIAISON® *C. difficile* GDH. Todas las muestras enriquecidas ofrecieron un resultado positivo:

Cepas de *C. difficile* toxicogénicas: 2004111, 2004118, 2004205, 2005070, 2005105, 2005106, 2005195, 2005216, 2005220, 2005257, 2005323, 2005325, 2005451, 2005506, 2006060, 2006062, 2006240, 2006366, 2007050, 2007077, 2007279, 2007431, 2007435, 2007459, 2007802, 2007858, 2008016, 2008029, 2008068, 2008162, 2008188, 2008341, 2008351, 2009018, 2009065, 2009066, 2009099, 2009287, 2009363, 20100278, 20100280, 20100304, 20100307, 20100378, 20100381, ATCC43255, ATCC43598

Cepas de *C. difficile* no toxicogénicas: 20110962, 20100459, 20110074, 20110203, 20110336, 20110451, 20110471, 20110682, 2011812, 20110836, ATCC700057

18.8 Efecto de arrastre

Se llevó a cabo una prueba para determinar la posible existencia de efecto de arrastre en el LIAISON® Analyzer. Los resultados obtenidos no mostraron cambios en los valores previstos, por lo que queda demostrado que no se ha observado efecto de arrastre en las muestras fecales analizadas con el LIAISON® *C. difficile* GDH Assay en el LIAISON® Analyzer.

El efecto de arrastre no es aplicable al LIAISON® XL Analyzer, ya que se emplean puntas desechables para pipetear las muestras.

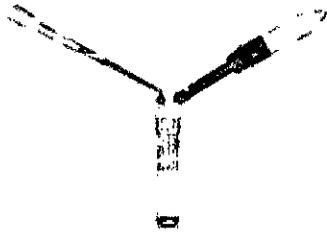
17084



1. Preparación de heces para el ensayo LIAISON® C. difficile GDH con el LIAISON® Stool Extraction Device de DiaSorin



Añada diluyente de muestras LIAISON® C. difficile Sample Diluent a un tubo para muestras.



Añada las heces
A) Líquidas o semisólidas:
Utilice una pipeta para heces líquidas desechable.
B) Sólidas:
Utilice la cuchara azul del tubo cónico con la unidad de filtro azul o un dispositivo similar.

2. Montaje del dispositivo



Enrosque BIEN la unidad de filtro cónico azul en el tubo para mezclas. Los bordes exteriores de ambos recipientes deben tocarse entre sí.
NOTA: El dispositivo correctamente montado no debe mostrar huecos visibles.



Correcto:
Sin huecos



Incorrecto:
Hay huecos visibles

3. Mezcla



Agite vigorosamente en vórtex durante 20 segundos para mezclar la muestra a fondo.

4. Centrifugación



Centrifugue con el tubo cónico mirando hacia arriba @ ≥ 2.000 g durante 10 minutos utilizando una centrifuga de cubeta oscilante.



Invierta el dispositivo de forma que el tubo cónico quede mirando hacia abajo. Centrifugue a 200 g durante 1 minuto.

NOTA: El dispositivo debe permanecer ahora en posición vertical.

5. Examen y análisis



Desenrosque el tubo cónico del dispositivo.
Elimine el tubo para mezclas / unidad de filtro azul en un recipiente para desechos biológicos apropiado conforme a las normas vigentes.
Examine el sobrenadante. El sobrenadante puede aparecer turbio, pero no debe presentar restos ni burbujas visibles.

Coloque el tubo cónico en el analizador DiaSorin apropiado para realizar la prueba, o consulte las instrucciones de uso de la sección 9 para ver los métodos de almacenamiento recomendados.

Limpie el área de trabajo con una solución de lejía al 10% (hipoclorito sódico al 0,5%).



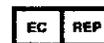
Peligro biológico
Dispositivo de un solo uso

19. Referencias

1. McDonald LC, Sunenshine RH, *Clostridium difficile*-associated disease: New challenges from an established pathogen. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, Volume 73 Number 2, Feb. 2006.
2. Wilkins TD, Lyerly DM; Minireview *Clostridium difficile* Testing: after 20 Years, Still Challenging. *J. Clin. Microbiol.*, Feb. 2003, pp. 531-534.
3. Anderson BM, Anderson CD, Van Tassell RL, Lyerly DM, Wilkins TD. Purification and Characterization of *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenase. *Arch Biochem Biophys*, Vol 300, No.1, Jan. 1993; pp. 483-488.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C24-A3, Vol.26, No.55, Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline - Third Edition.
5. Freeman J, Bauer MP, Baines SD, Corver J, Fawley WN, Goorhuis B, Kuijper EJ, Wilcox MH; The Changing Epidemiology of *Clostridium difficile* Infections: *Clinical Microbiology Reviews*, July 2010; pp. 529-549.
6. Bartlett JG. 1990 *Clostridium difficile*: clinical considerations. *Rev Infect Dis.* 12 S243-S251.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A2, Vol.24, No.25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Second Edition.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP12-A2, Vol.28, No.3, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline – Second Edition.



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy