



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

DISPOSICIÓN N° 1688

BUENOS AIRES 16 FEB. 2017

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-1152/16-4 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 de uso In Vitro denominado LIASON TREPONEMA SCREEN , autorizado por Certificado N° 006253.

Que a fojas 70 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 con muestras cadavéricas del producto de diagnóstico de uso In Vitro denominado LIASON TREPONEMA SCREEN.

E
MA



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

DISPOSICIÓN N° 1688

ARTÍCULO 2º.- Acéptense los nuevos proyectos de Manual de Instrucciones a fojas 56 A 76. Desglosándose las fojas 70 A 76 donde deberán constar las modificaciones descriptas en el artículo 1º precedente.

ARTÍCULO 3º.- Practíquese la atestación correspondiente del Certificado n° 006253, cuando els mismos 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 rótulos, manual de instrucciones.
Cumplido, archívese.-

Expediente n°: 1-47-3110-1152/16-4

DISPOSICIÓN N°:

1688

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



1688
CE

16 FEB. 2017

Modificaciones: §7, §9, §14, §15.2, §15.3, §15.6;
Supresiones: -

LIAISON® Treponema Screen (REF 310840)

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

El ensayo LIAISON® Treponema Screen emplea la tecnología de la del inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cualitativa de anticuerpos específicos totales dirigidos contra *Treponema pallidum* en muestras de suero o plasma humano.

El ensayo debe realizarse en la serie de instrumentos LIAISON® Analyzer.

2. SUMARIO Y EXPLICACIÓN DEL TEST

La sífilis es una enfermedad, normalmente transmitida sexualmente, causada por la infección con la espiroqueta *Treponema pallidum*. En la literatura también se han descrito la transmisión congénita del *Treponema pallidum* mediante el paso transplacentar desde madres infectadas y el contagio a través de transfusiones sanguíneas. La infección es sistémica desde el inicio y la enfermedad se caracteriza por períodos latentes, que duran frecuentemente más de veinte años. El curso natural de la sífilis se subdivide convencionalmente en tres fases. Después de un período de incubación que dura aproximadamente tres semanas, aparece una lesión de la piel no dolorosa (chancro) a menudo asociada con linfadenopatía regional (fase primaria). La enfermedad progresa en una fase secundaria, diseminada, acompañada por lesiones mucocutáneas y linfadenopatía generalizadas. Si se permite que la infección por el *Treponema pallidum* progrese en la fase tardía, la fase secundaria es seguida por un período de infección subclínica (sífilis latente) detectada solamente por test serológicos y por una fase avanzada o terciaria, observada solamente en un número reducido de pacientes, caracterizada por la enfermedad progresiva.

La sífilis se puede diagnosticar con diferentes test serológicos de laboratorio, los cuales también son útiles para establecer la fase de la enfermedad cuando se adoptan junto con otras pruebas clínicas. El diagnóstico serológico se establece generalmente usando dos test estándar combinados, un test de anticuerpos no treponémicos para fines de selección y un test de anticuerpos treponémicos específicos para fines de confirmación. Los dos test de anticuerpos no treponémicos usados más comúnmente son el test del Laboratorio de Investigación de las Enfermedades Venéreas (VDRL) y el test de la Reagína Plasmática Rápida (RPR), que representa una variación simplificada del VDRL.

En muchos laboratorios, la técnica de selección adoptada es el test de hemaglutinación del *Treponema pallidum* (TPHA), que consiste en la aglutinación de eritrocitos recubiertos de antígenos específicos para *Treponema pallidum* porque detecta anticuerpos de clase IgG e IgM. Sin embargo, la interpretación de los resultados del test TPHA es subjetiva y no puede ser completamente automatizada. Recientemente se han introducido en el mercado varios kit inmunoenzimáticos que emplean lisados bacterianos o proteínas recombinantes purificadas.

Los resultados positivos se pueden confirmar con un método de referencia, el test de absorción de los anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-Abs), que permite detectar tanto IgG como IgM. Sin embargo, su ejecución es larga y compleja, inadecuada para la selección de un número grande de muestras, y la interpretación de los resultados es subjetiva.

La reactividad de los test treponémicos, basados en el uso de antígenos específicos, persiste a menudo para siempre, también después del tratamiento, en contraste con los test no treponémicos. Por consiguiente, en los donantes de sangre y plasma se buscan los anticuerpos anti-*Treponema pallidum* con test treponémicos y no treponémicos.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El método para la determinación de anticuerpos específicos totales anti-*Treponema pallidum* es un ensayo sandwich con una incubación basado en el principio de la quimioluminiscencia (CLIA). Antígenos recombinantes específicos de *Treponema pallidum* se emplean para recubrir las partículas magnéticas (fase sólida) y están enlazados a un derivado del isoluminol (conjugado antígeno-isoluminol). Durante la incubación, los anticuerpos anti-*Treponema pallidum* presentes en los calibradores, en las muestras o en los controles entazan la fase sólida y el antígeno conjugado. Después de la 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. La señal luminosa, y por lo tanto la cantidad de conjugado antígeno-isoluminol, se mide con un fotomultiplicador en unidades relativas de luz (RLU, relative light units) e indica la concentración de anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* presente en los calibradores, en las muestras o en los controles.

E

WM ARGENTINA S.A.
MARIA FRETES
DIRECTORA TÉCNICA
N.º 0129



4. MATERIALES SUMINISTRADOS

Integral de reactivos

Partículas magnéticas (2,3 mL)	[SORB]	Partículas magnéticas recubiertas con antígenos recombinantes de <i>Treponema pallidum</i> (obtenidos en <i>E. coli</i>), albúmina sérica bovina, tampón PBS, < 0,1% azida sódica.
Calibrador 1 (1,4 mL)	[CAL1]	Suero/plasma humano que contiene niveles bajos de anticuerpos anti- <i>Treponema pallidum</i> , albúmina sérica bovina, tampón fosfato, 0,2% ProClin® 300 y un colorante amarillo inactivo. Las concentraciones de los calibradores son calibradas contra una preparación interna de anticuerpos.
Calibrador 2 (1,4 mL)	[CAL2]	Suero/plasma humano que contiene niveles altos de anticuerpos anti- <i>Treponema pallidum</i> , albúmina sérica bovina, tampón fosfato, 0,2% ProClin® 300 y un colorante azul inactivo. Las concentraciones de los calibradores son calibradas contra una preparación interna de anticuerpos.
Diluyente de muestras (13 mL)	[DILSPE]	Proteínas, EDTA, tampón fosfato, 0,2% ProClin® 300 y un colorante azul inactivo.
Conjugado (9 mL)	[CONJ]	Antígenos recombinantes de <i>Treponema pallidum</i> (obtenidos en <i>E. coli</i>), conjugados con un derivado del isoluminol, albúmina sérica bovina, tampón PBS, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
Número de ensayos		200

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. El orden de los reactivos refleja el orden con el que se han ensamblado los contenedores en el integral de reactivos.

Materiales requeridos, pero no suministrados (relacionados con el sistema)

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

Otros materiales requeridos

Controles LIAISON® Treponema Screen (negativo y positivo) (**[REF]** 310841).

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

Todas las unidades de suero y plasma utilizadas para la fabricación de los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivas para la presencia de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y anti-HIV-2. Sin embargo, visto que ningún método de análisis puede asegurar que los agentes patógenos estén ausentes, todo el material de origen humano se deberá considerar potencialmente infeccioso y manipularlo como tal.

6. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume ni se maquille en el laboratorio donde se realiza 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 usados 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.

No utilice ningún kit o componente después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

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



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

REACTIVOS:	CAL1, CAL2, CONJ, DILSPE
CLASIFICACIÓN:	Skin sens. 1 H317
PALABRA DE ADVERTENCIA:	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 sustancias prescritas 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) (ProClim® 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 DEL INTEGRAL DE REACTIVOS

Observe escrupulosamente las siguientes precauciones importantes para manipular los reactivos:

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 la protección de los contenedores, gire hacia adelante y hacia atrás la ruedecilla dentada situada por debajo del contenedor de las partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte una coloración morena. Agite horizontalmente el integral de reactivos con delicadeza y sumo cuidado para favorecer 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 la completa resuspensión de las partículas magnéticas.

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. Observe las recomendaciones siguientes para evitarla:

Antes de usar el integral, controle visualmente los reactivos, especialmente los calibradores (situados en la segunda y tercera posición del integral, después del contenedor de las partículas magnéticas) para excluir la presencia de espuma. Si se observa la presencia de espuma después de la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que se disuelva la espuma. El integral está listo para el uso cuando se ha dejado descansar en el instrumento, las partículas magnéticas han sido mantenidas en agitación automática y se ha disuelto la espuma.

Cargar el integral en el área de los reactivos del instrumento

LIAISON® Analyzer

- Coloque el integral de reactivos en el área de los reactivos del instrumento con la etiqueta de los códigos de barras situada a la izquierda y déjelo agitar durante 30 minutos antes del uso. Durante este tiempo las partículas magnéticas serán mantenidas en agitación automáticamente para garantizar una resuspensión completa.
- Hágase referencia al manual operativo del instrumento para cargar las muestras e iniciar el ensayo.

LIAISON® XL Analyzer

- LIAISON® XL Analyzer está dotado de un dispositivo magnético interno que favorece la dispersión de las micropartículas antes de colocar un integral de reactivos en el área de los reactivos del instrumento. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para los detalles técnicos.
 - a. Coloque el integral de reactivos en la ranura específica.
 - b. Deje descansar el integral de reactivos en el dispositivo magnético por al menos 30 segundos (hasta varios minutos). Si es necesario, repita la operación.
- Luego coloque el integral de reactivos en el área de los reactivos del instrumento con la etiqueta situada a la izquierda y déjelo agitar durante 15 minutos antes del uso. Durante este tiempo las partículas magnéticas serán mantenidas en agitación automáticamente para garantizar una resuspensión completa.
- Hágase referencia al manual operativo del instrumento para cargar las muestras e iniciar el ensayo.

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



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:** Estabilidad mínima cuatro semanas. Después de este intervalo de tiempo, se puede seguir usando el integral de reactivos, siempre que los controles permanezcan dentro de los límites esperados.
- Use siempre el mismo instrumento para un integral de reactivos ya abierto.
- Use las gradillas suministradas con el instrumento para la conservación del integral de reactivos en posición vertical.
- No congele.
- Mantenga el integral de reactivos en posición vertical durante la conservación para facilitar la resuspensión de las partículas magnéticas.
- Mantenga protegido de la luz directa.

9. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

En el ensayo puede emplearse suero o plasma humanos. Las pruebas realizadas confirman que es posible utilizar citrato, EDTA y heparina como anticoagulantes. 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 siete días siguientes a la extracción, las muestras libres de eritrocitos, coágulos o separador de gel deben guardarse a una temperatura de 2°-8°C; de lo contrario, hay que hacer partes alicuotas y congelarlas (-20°C o menos). Ocho muestras de diferente reactividad se han guardado durante siete días a 2-8°C, y 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 es de 230 µL (80 µL de muestra + 150 µL de volumen muerto).

10. CALIBRACIÓN

El ensayo de los calibradores específicos contenidos en el integral de reactivos permite ajustar la curva predefinida memorizada por el fabricante en las unidades relativas de luz (RLU = relative light units) detectadas. Con una solución de los calibradores es posible realizar cuatro calibraciones.

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

- Se usa un nuevo lote de integral de reactivos o un nuevo lote de reactivos starter.
- La calibración anterior fue realizada más de dos semanas antes.
- El instrumento ha sufrido una intervención de asistencia técnica.
- Los valores de los controles están fuera de los rangos esperados.

LIAISON® Analyzer: Los valores de los calibradores están almacenados en los códigos de barras de la etiqueta del integral.

LIAISON® XL Analyzer: Los valores de los calibradores están almacenados en el Tag para identificación de radiofrecuencia (Radio Frequency IDentification transponder, RFID Tag).

11. PROCEDIMIENTO OPERATIVO

Para obtener unas prestaciones analíticas ideales hay que respetar estrictamente las instrucciones del manual operativo del instrumento.

LIAISON® Analyzer. Cada parámetro de la prueba se identifica mediante el código de barras incluido en la etiqueta del integral de reactivos. Si el instrumento no puede leer el código de barras, el integral no debe utilizarse. No deseche el integral de reactivos; póngase en contacto con el servicio técnico local de DiaSorin para solicitar instrucciones.

LIAISON® XL Analyzer. Cada parámetro de la prueba se identifica mediante la información codificada en la etiqueta 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.

El instrumento realiza las operaciones siguientes:

1. Distribuye el diluyente de muestras, las partículas magnéticas recubiertas y el conjugado en el módulo de reacción.
2. Distribuye calibradores, controles o muestras.
3. Incuba.
4. Lava con el líquido de lavado.
5. Añade los reactivos starter 1 y 2 y mide la luz emitida.

WM ARGENTINA S.A.
MARÍ FRETES
DIRECTORA TÉCNICA

12. CONTROL DE CALIDAD

Los controles LIAISON® se deben analizar individualmente para evaluar las prestaciones del test. El control de calidad se debe realizar analizando los controles LIAISON® Treponema Screen

- por lo menos una vez por cada día de trabajo,
- cuando se usa un nuevo integral de reactivos,
- cuando se calibra el kit,
- cuando se usa un nuevo lote de reactivos starter,
- cuando se determina la adecuación de las prestaciones del integral de reactivos abierto con más de cuatro semanas de anterioridad, o según las disposiciones legislativas y las reglamentaciones vigentes en cada país.

Los valores de los controles tienen que estar comprendidos entre los rangos esperados: cada vez que uno o ambos valores estén fuera de los rangos esperados habrá que volver a efectuar la calibración y probar de nuevo los controles. Si los valores experimentales de los controles estén de nuevo fuera de los rangos predefinidos después de la calibración, habrá que repetir el test usando un frasco de control no abierto. Si los valores de los controles estén fuera de los rangos esperados, los resultados de las muestras no deben ser notificados.

Las prestaciones de otros controles se deben evaluar para asegurar su compatibilidad con este test antes del uso. Por lo tanto es indispensable establecer los intervalos de los valores de los materiales usados para el control de calidad.

13. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El instrumento calcula automáticamente los niveles de anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* expresados en valor de índice y clasifica los resultados. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para una información más detallada. Los calibradores y los controles pueden dar unos resultados de concentración o de unidades relativas de luz (RLU) distintos en LIAISON® y LIAISON® XL, pero los resultados de los pacientes son equivalentes.

El valor límite que discrimina entre la presencia y la ausencia de anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* tiene un valor de índice 1. Los resultados de las muestras deben ser interpretados como sigue:

Las muestras con niveles de anticuerpos anti-*Treponema pallidum* por debajo de un valor de índice 0,9 se deben clasificar **negativas**.

Las muestras con niveles de anticuerpos anti-*Treponema pallidum* entre un valor de índice 0,9 y 1,1 se deben clasificar **dudosas**.

Las muestras con niveles de anticuerpos *Treponema pallidum* cuyo valor de índice sea igual o superior a 1,1 se deben clasificar **inicialmente reactivas**.

Una muestra con resultado **inicialmente reactivo o dudoso** en el primer análisis debe volver a controlarse para confirmar el resultado inicial.

Si el resultado de una muestra es repetidamente reactivo en un análisis como mínimo, deberá considerarse positiva.

Si una muestra es no reactiva en la segunda prueba, se considerará negativa.

Si el resultado es repetidamente dudoso, habrá que recoger y analizar una segunda muestra después de una semana por lo menos.

Un resultado negativo para anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* indica generalmente que no se ha desarrollado una infección, pero no excluye con seguridad una sífilis aguda, porque la infección puede estar en una fase muy precoz y el paciente puede no haber sintetizado todavía los anticuerpos específicos anti-*Treponema pallidum*, o bien porque los niveles de anticuerpos no se pueden determinar. Si se sospecha que el paciente haya estado expuesto a *Treponema pallidum*, aunque el ensayo de los anticuerpos sea negativo o dudoso, habrá que recoger y ensayar una segunda muestra durante el curso de la infección.

Un resultado positivo para anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* indica generalmente que el sujeto ha estado expuesto a *Treponema pallidum* (infección aguda o pasada). Sin embargo, una única muestra puede sólo ayudar a estimar el estado serológico del sujeto.

14. LIMITACIONES DEL ENSAYO

El test permite detectar la presencia de anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* tanto durante una infección reciente como durante una pasada, pero no es capaz de discriminar entre las diferentes clases de anticuerpos.

La detección de los anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* puede indicar una infección reciente, pasada o tratada con éxito: por lo tanto, el test no discrimina entre sífilis activa y tratada y no puede utilizarse para determinar la eficacia del tratamiento terapéutico.

El test LIAISON® Treponema Screen puede suministrar resultados positivos que en cambio son negativos con los test no treponémicos (VDRL, RPR), porque detecta los anticuerpos anti-*Treponema pallidum* que persisten para siempre. Los test RPR suministran generalmente resultados negativos en la infección pasada, porque detectan los anticuerpos heterófilos, que están presentes sólo en la fase precoz de la infección.

Los resultados del kit no han sido validados en las muestras de pacientes con HIV.

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 mediante calentamiento pueden modificar los resultados del análisis.

Los resultados del test se muestran de manera cualitativa como positivos o negativos para la presencia de anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum*. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad infecciosa no se debe formular en base al resultado de un solo ensayo, sino que éste se debe validar con otras pruebas clínicas, procedimientos diagnósticos y con la opinión del médico. Por lo tanto, para efectuar un diagnóstico preciso es necesario tomar en consideración la anamnesis, la sintomatología y los datos serológicos de los pacientes. De todas formas, los resultados del test se deben interpretar con cautela en los individuos inmunocomprometidos porque en estos casos la respuesta anticorpal está deprimida.

Los integrales no deben utilizarse con los dos tipos de instrumentos (LIAISON® y LIAISON® XL). Cuando se ha usado un integral con un tipo de instrumento éste debe continuar a usarse siempre en dicho instrumento hasta que se termine. Por cuestiones de posibilidad de rastreo que derivan de esta declaración, es necesario terminar el seguimiento de los pacientes con el mismo tipo de instrumento (LIAISON® o LIAISON® XL), sin efectuar intercambios ni desplazamientos.

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.

WM ARGENTINA S.A.
MARIA FRETES
DIRECTORA TÉCNICA
N.º 15129



15. PRESTACIONES METODOLÓGICAS DEL KIT

15.1. Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la capacidad que tiene el test para detectar exactamente el analito ante la presencia de factores potencialmente interferentes en la matriz de la muestra (por ejemplo, anticoagulantes, hemólisis, efectos de tratamientos de la muestra) o de reacciones cruzadas con anticuerpos potencialmente interferentes.

Interferencias. Estudios controlados sobre los factores potencialmente interferentes han demostrado que las prestaciones del test no están influenciadas por anticoagulantes (citrato sódico, EDTA, heparina), hemólisis (hasta 1000 mg/dL de hemoglobina), lipemia (hasta 3000 mg/dL de triglicéridos), bilirrubinemia (hasta 20 mg/dL de bilirrubina) o por los ciclos de congelación y descongelación de las muestras.

Reacciones cruzadas. Por norma, la presencia de anticuerpos potencialmente interferentes no interfiere en el ensayo. Los anticuerpos estudiados han sido: (a) inmunoglobulinas dirigidas contra varios agentes etiológicos – como hCMV, EBV, VZV, virus de la rubeola, *Borrelia burgdorferi*, *Treponema denticola*, *Toxoplasma gondii* – (b) anticuerpos anti-nucleares (ANA) y factor reumatoide (inmunoglobulinas anti-Fc).

15.2. Precisión con LIAISON® Analyzer

La repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) han sido determinadas utilizando las muestras de referencia en diferentes concentraciones de analito. La variabilidad observada no ha dado lugar a una clasificación errónea de las 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.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad se han analizado veinte replicados en la misma sesión analítica.

Repetibilidad	A	B	C	D
Número de determinaciones	20	20	20	20
Media (valor de índice)	0,13	8,17	51,48	58,53
Desviación estándar	0,02	0,22	1,39	1,63
Coefficiente de variación (%)	13,1	2,6	2,7	2,8

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se han analizado varios replicados en días diferentes (una o dos sesiones analíticas al día) utilizando tres lotes diferentes de integral. Los ensayos se realizaron en dos sitios, en el laboratorio donde se desarrolló el kit y en un laboratorio independiente. Los resultados se refieren a los grupos de pacientes tomados en consideración; no se trata de prestaciones garantizadas porque pueden existir diferencias entre los diferentes laboratorios.

Reproducibilidad	SITIO 1				SITIO 2			
	E	F	G	H	E	F	G	H
LOTE Nr. 01								
Número de determinaciones	20	20	20	20	11	11	11	11
Media (valor de índice)	0,18	11,02	40,20	56,45	0,15	12,50	41,68	57,47
Valor mínimo	0,14	9,40	26,90	47,00	0,10	11,30	38,10	42,40
Valor máximo	0,20	12,80	46,70	61,00	0,19	14,00	47,00	66,70
Coefficiente de variación (%)	10,8	7,3	12,1	5,9	15,4	7,0	7,1	11,2
LOTE Nr. 02								
Número de determinaciones	20	20	20	20	11	11	11	11
Media (valor de índice)	0,13	12,24	38,08	56,20	0,07	13,15	40,00	57,36
Valor mínimo	0,09	11,00	33,20	49,00	0,05	11,90	36,70	50,70
Valor máximo	0,26	13,90	44,30	62,30	0,09	14,00	43,00	64,00
Coefficiente de variación (%)	39,2	6,3	8,5	5,9	21,9	4,6	7,9	6,3
LOTE Nr. 03								
Número de determinaciones	20	20	20	20	11	11	11	11
Media (valor de índice)	0,06	12,60	40,83	54,45	0,03	12,57	38,85	55,80
Valor mínimo	0,04	11,40	34,70	47,30	0,03	11,10	33,70	49,70
Valor máximo	0,10	13,50	49,30	61,30	0,03	13,60	42,30	62,00
Coefficiente de variación (%)	24,7	3,7	12,1	8,4	0,0	5,7	9,1	6,6

15.3. Precisión con LIAISON® XL Analyzer

La repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) han sido determinadas utilizando las muestras de referencia en diferentes concentraciones de analito. La variabilidad observada no ha dado lugar a una clasificación errónea de las 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.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad se han analizado veinte replicados en la misma sesión analítica.

Repetibilidad	1	2	3	Control positivo
Número de determinaciones	20	20	20	20
Media (valor de índice)	0,565	3,07	3,99	11,1
Desviación estándar	0,051	0,056	0,082	0,34
Coefficiente de variación (%)	9,1	1,8	2,0	3,0
Valor mínimo	0,492	2,99	3,80	10,5
Valor máximo	0,656	3,19	4,12	11,6

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se han analizado veinte replicados en días diferentes (una o dos sesiones analíticas al día).

Reproducibilidad	1	2	3	Control positivo
Número de determinaciones	20	20	20	20
Media (valor de índice)	0,328	2,91	3,78	10,5
Desviación estándar	0,053	0,10	0,12	0,47
Coefficiente de variación (%)	16,0	3,6	3,2	4,5
Valor mínimo	0,216	2,77	3,56	9,89
Valor máximo	0,422	3,17	4,06	11,2

WM ARGENTINA S.A.
MARIA FRUTES
DIRECTORA TÉCNICA



15.4. Efecto gancho con altas concentraciones

Cuando se ensayan muestras que contengan unas concentraciones de anticuerpos sumamente elevadas con un método *sandwich* con una incubación, se pueden obtener unos niveles aparentes de anticuerpos inferiores al nivel real por efecto gancho.

La presencia de un efecto gancho ha sido evaluada analizando cuatro muestras positivas para anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* con alto título. Todas las muestras han presentado unos valores de concentración por encima del intervalo de ensayo, como se espera de las muestras con alto título, indicando que la clasificación de las muestras es correcta.

15.5. Especificidad y sensibilidad diagnósticas

La especificidad y la sensibilidad diagnósticas han sido evaluadas analizando 3690 muestras provenientes de diversas poblaciones. Las muestras han sido examinadas con diferentes métodos de comparación y se ha empleado la regla del consenso general y los datos clínicos y serológicos para establecer los resultados esperados. Los resultados globales son los que siguen; los resultados detallados se indican más abajo.

Especificidad diagnóstica: 99,91% (3506/3509) - intervalo de confianza al 95%: 99,75-99,98%.

Sensibilidad diagnóstica: 99,40% (167/168) - intervalo de confianza al 95%: 96,73-99,98%.

DONANTES DE SANGRE. En 2494 muestras provenientes de una población de donantes no seleccionados, 2491 muestras fueron negativas, una muestra fuera dudosa y dos muestras fueron positivas. La especificidad diagnóstica fue de 99,92% (2491/2493), calculada después de excluir el resultado dudoso (intervalo de confianza al 95%: 99,71-99,99%).

MUESTRAS CLÍNICAS. Se analizaron 131 muestras recogidas de pacientes en diferentes fases de la enfermedad (7 en fase primaria, 31 en fase secundaria, 77 con sífilis latente, 5 con sífilis cardiovascular, 6 con neurosífilis y 5 con sífilis congénita) utilizando los test comerciales como RPR, TPHA, ensayo inmunoenzimático y test Western blot preparado dentro del laboratorio. Las muestras fueron luego evaluadas con el test LIAISON® *Treponema Screen*. Seis muestras fueron clasificadas dudosas y por consiguiente, excluidas, porque los test de comparación no concordaban. De las 125 muestras clasificadas positivas, 125 fueron positivas con el test LIAISON® *Treponema Screen*. La sensibilidad diagnóstica fue de 100% (125/125), calculada una vez excluidos los resultados dudosos (intervalo de confianza al 95%: 97,09-100%).

REACCIONES CRUZADAS. También se analizaron 65 muestras potencialmente interferentes; de éstas, 30 proporcionaron resultados positivos para anticuerpos anti-*Borrelia burgdorferi*, 10 proporcionaron resultados positivos para anticuerpos anti-EBV, 10 proporcionaron resultados positivos para anticuerpos anti-*Streptococcus β-haemoliticus* y 15 proporcionaron resultados positivos para anticuerpos anti-*Treponema denticola*. Todas las muestras potencialmente interferentes fueron negativas con el test LIAISON® *Treponema Screen*.

MUESTRAS PROSPECTIVAS. Se analizaron 1000 muestras provenientes de la rutina de laboratorio con resultados serológicos correlativos (ensayo inmunoenzimático y test Western blot preparado en el laboratorio). Los test de comparación no concordaron en cinco resultados que fueron clasificados dudosos. Considerando como seguros los resultados suministrados por el ensayo inmunoenzimático y el test Western blot combinados, la especificidad diagnóstica fue de 99,89% (950/951 - intervalo de confianza al 95%: 99,42-100%) y la sensibilidad diagnóstica fue de 97,67% (42/43 - intervalo de confianza al 95%: 87,71-99,94%), calculadas una vez excluidos los resultados dudosos.

15.6. 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 6,9% 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 *Treponema pallidum*. 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 1,5% en muestras cadavéricas y un 1,3% 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 (valor de índice)	Recuperación (%) post-mortem/ donantes vivos	Prueba t valor p	CV% 6 réplicas
Sin diluir	Post-mortem no enriquecidas	0,182	n/d	n/d
	Donantes vivos no enriquecidas	<0,100	n/d	n/d
Positivo bajo	Post-mortem enriquecidas	2,41	1,3	1,5
	Donantes vivos enriquecidas	2,38	1,3	1,3
Positivo medio/alto	Post-mortem enriquecidas	5,87	6,9	n/d
	Donantes vivos enriquecidas	5,49	6,9	n/d

* 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 PRETES
DIRECTORA TÉCNICA
M^o N^o 1188