



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

**Disposición**

**Número:**

**Referencia:** 1-0047-3110-001252-23-7

---

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-001252-23-7 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones CROMOION S.R.L. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro denominado Nombre descriptivo: Reactivo para determinación cuantitativa de 17 alfa-hidroxiprogesterona en neonatos.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro 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, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99 y normas complementarias.

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

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorias.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

## DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

### DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Nombre descriptivo: Reactivo para determinación cuantitativa de 17 alfa-hidroxiprogesterona en neonatos, de acuerdo con lo solicitado por CROMOION S.R.L. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento GEDO N° IF-2023-68339135-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 908-220 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

### DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Reactivo para determinación cuantitativa de 17 alfa-hidroxiprogesterona en neonatos

Marca comercial: SPOTCHECK

Modelos:

SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit

Indicación/es de uso:

El SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit está diseñado para la medición cuantitativa de las

concentraciones de 17 alfa-hidroxiprogesterona (17-OHP) en muestras de sangre neonatal que se recogieron en papel de recolección de muestras. Los resultados se utilizan para evaluar a los recién nacidos en busca de hiperplasia suprarrenal congénita clásica (HSC).

Forma de presentación: El kit para 480 tests se compone de:

- Microplacas recubiertas (Anti-17-OHP de conejo): 5 placas
- Concentrado de conjugado enzimático (17-OHP-HRP monoclonal de ratón): 1 x 6 mL
- Diluyente de conjugado (17-OHP): 1 x 60 mL
- Buffer de lavado concentrado (20X): 1 x 50 mL
- Revelador de color; 1 x 60 mL
- Reactivo stop: 1 x 60 mL
- Estándares y controles de analitos múltiples (TSH/T4/17-OHP): 2 tarjetas de Controles y 2 tarjetas de estándares

Período de vida útil y condición de conservación: 24 meses, conservado entre 2-8° C

Nombre del fabricante:  
ASTORIA-PACIFIC INC.

Lugar de elaboración:  
15130 S.E. 82ND DR Clackamas, OR USA 97015

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-001252-23-7

N° Identificadorio Trámite: 46428

AM

# ASTORIA • PACIFIC

**SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit**  
Un inmunoensayo enzimático (EIA) para la determinación  
cuantitativa de los niveles de 17  $\alpha$ -hidroxiprogesterona  
(17-OHP) en recién nacidos

**Sólo para uso diagnóstico in vitro**

## ASTORIA • PACIFIC

15130 SE 82<sup>nd</sup> Dr. Clackamas, OR 97015

Llamada gratuita: (800) 536-3111 Teléfono: (503) 657-3010 Fax: (503) 655-7367

Número de catálogo:

85-2000-05KE, 480 pruebas

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Arnaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13785  
Dirección Técnica

Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

## TABLA DE CONTENIDOS

Uso previsto.....	3
Resumen y Explicación del ensayo .....	3
Principio del ensayo.....	3
Contenido del kit .....	4
Materiales requeridos pero no provistos para ambos Procedimientos Directo y de Elución.....	6
Advertencias y Precauciones.....	6
Recolección, entrega, almacenamiento y preparación de las muestras .....	7
Precauciones del ensayo y posibles fuentes de error .....	8
Preparación de reactivos .....	9
Procedimientos de ensayo .....	9
Cálculo de los resultados.....	12
Control de Calidad.....	13
Valores esperados e Interpretación de los resultados .....	14
Características de funcionalidad.....	16
Comparación de métodos.....	19
REFERENCIAS .....	25

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

## Uso previsto

El SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit está diseñado para la medición cuantitativa de las concentraciones de 17  $\alpha$ -hidroxiprogesterona (17-OHP) en muestras de sangre neonatal que se recogieron en papel de recolección de muestras, aprobado para la detección en recién nacidos. Los resultados se utilizan para evaluar a los recién nacidos en busca de hiperplasia suprarrenal congénita clásica (HSC).

## Resumen y explicación del ensayo

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) es una familia de trastornos genéticos causados por actividades enzimáticas reducidas, que son necesarias en la vía de biosíntesis que conduce a la producción de cortisol en la corteza suprarrenal. El más común de estos trastornos es la deficiencia de 21-hidroxilasa y representa más del 90% de los casos de HSC.<sup>1, 2, 3</sup>


La incidencia de las deficiencias clásicas de 21-hidroxilasa varía ampliamente según la población y el grupo étnico. En Japón se cree que la incidencia es de aproximadamente 1 en 21.000, mientras que en Europa y América del Norte la incidencia varía entre 1 en 10.000 y 1 en 16.000. Los esquimales yupik en Alaska tienen una incidencia extremadamente alta de alrededor de 1 en 300.<sup>4, 5</sup>

Los síntomas clínicos de la deficiencia de 21-hidroxilasa se deben principalmente a la producción excesiva de precursores del paso enzimático bloqueado. Estos precursores se derivan a la vía de biosíntesis de andrógenos, que produce virilización en el feto femenino, crecimiento postnatal rápido con maduración esquelética acelerada, pubertad precoz y baja estatura tanto en hombres como en mujeres.<sup>6</sup> Aproximadamente el 75% de los pacientes con HSC clásica también tienen un defecto en su capacidad para sintetizar aldosterona, lo que puede conducir a una crisis de pérdida de sal.

En las deficiencias clásicas de 21-hidroxilasa, los niveles de 17  $\alpha$ -hidroxiprogesterona (17-OHP) aumentan notablemente. Sin embargo, los niveles de 17-OHP en bebés normales se elevan en los primeros dos o tres días después del nacimiento. Estas altas concentraciones en infantes normales disminuyen rápidamente a niveles de adultos dentro de los primeros siete a diez días.<sup>7</sup> Los infantes con bajo peso al nacer, prematuros y enfermos pueden continuar teniendo niveles de 17-OHP más altos de lo normal durante un período prolongado. Por esta razón, se recomendó que se emplee un enfoque de múltiples niveles para establecer el límite normal. Los laboratorios deben ser notificados sobre la terapia con dexametasona o el estado de la transfusión. Debido a las diferencias de población, también se recomienda encarecidamente que cada laboratorio establezca su propio rango normal y niveles de corte. También se recomienda la revisión periódica y el posible ajuste si es necesario, para reducir la tasa de falsos positivos. Las formas no clásicas de HSC no se detectan de forma fiable mediante el screening neonatal.<sup>8, 9, 10, 11</sup>

El Grupo de Trabajo sobre Screening Neonatal de la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica (ESPE) ha recomendado que después de una prueba de screening positiva para HSC, es imperativo que el diagnóstico sea validado con pruebas de confirmación. Los métodos de confirmación varían según la disponibilidad, pero incluyen análisis de esteroides en orina, estimulación con ACTH y análisis del gen *CYP21*.<sup>12, 13, 14, 15</sup>

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

## Principio del ensayo

El SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit es un inmunoensayo enzimático (EIA) competitivo en fase sólida para la medición cuantitativa de las concentraciones de 17  $\alpha$ -hidroxiprogesterona (17-OHP) en muestras de sangre neonatal que se han recogido en papel de recolección de muestras. Se añaden discos de muestras de sangre seca desconocida y de control estándar a los pocillos especificados en una microplaca de 96 pocillos recubiertos con antisuero específico para 17-OHP.

Se presentan dos procedimientos.

El primer procedimiento incluye un paso de elución en el que se eluye sangre de la muestra de mancha de sangre seca. Se agrega un disco de 1/8 de pulgada (3 mm) de estándares, controles y muestras de manchas de sangre seca desconocidas a los pocillos especificados en una microplaca sin recubrimiento. Se agrega solución salina a todos los pocillos y se deja incubar la placa hasta que la sangre haya eluido del papel. Inmediatamente después de una transferencia de una porción de este eluato a la microplaca recubierta de anticuerpo, se añade a los pocillos una enzima peroxidasa de rábano picante conjugada con 17-OHP (17-OHP: HRP). Comienza una competencia entre el 17-OHP endógeno de las muestras, estándares y controles desconocidos y el 17-OHP: HRP, por el número limitado de sitios de unión de anticuerpos en los pocillos. Se desarrolla una relación inversamente proporcional entre la concentración de 17-OHP endógeno y la cantidad de 17-OHP: HRP, que se unirá a la microplaca recubierta. Después de un período de incubación, el exceso de 17-OHP: HRP se elimina mediante lavado. Se agrega a todos los pocillos un revelador de color que contiene 3,3', 5,5' tetrametilbencidina (TMB) y peróxido ( $H_2O_2$ ). El peróxido y la peroxidasa reaccionan y posteriormente el TMB se convierte de incoloro a un color azul. El desarrollo de color se termina mediante la adición de un reactivo stop y la absorbancia se mide a 650 nm utilizando un lector de absorbancia de microplaca. Se construye una curva estándar usando la concentración conocida de cada estándar graficada contra la lectura de absorbancia correspondiente de ese estándar. Las concentraciones de controles y muestras desconocidas se determinan por comparación con esta curva estándar.

Se describe un procedimiento alternativo, en el que un disco de 1/8 de pulgada (3 mm) de cada mancha de sangre se coloca directamente en los pocillos designados de la microplaca recubierta. Se añade la 17-OHP conjugada con enzima y la competición prosigue al mismo tiempo que el paso de elución. Una vez completado este período de incubación, el exceso de 17-OHP: HRP y los discos se eliminan por decantación o aspiración de los discos de cada pocillo. Luego, la placa se lava y se procesa usando el mismo procedimiento que se describe anteriormente.

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

**Contenido del kit****Materiales provistos**

Pocillos N° de catálogo	Cantidad por kit		
	96	480	1920
	85-2000-01KE	85-2000-05KE	85-2000-20KE
Microplacas recubiertas (Anti-17-OHP en conejo)	1 placa en tiras	5 placas	20 placas
Concentrado de conjugado enzimático (17-OHP:HRP)	2 mL	6 mL	25 mL
Diluyente de conjugado (17-OHP)	20 mL	60 mL	250 mL
Buffer de lavado concentrado (20X)	25 mL	50 mL	250 mL
Revelador de color *	20 mL	60mL	250 mL
Reactivo stop	20 mL	60mL	250 mL
Estándares y controles de analitos múltiples(TSH/T4/17-OHP)	1 juego	1 juego	4 juegos

**\*Este reactivo es sensible a la luz. Evite la exposición prolongada a la luz.**

**NOTA:** No utilice reactivos o soluciones que se hayan vuelto turbios o descoloridos, ya que estas condiciones indican deterioro. Los reactivos deben almacenarse en sus envases originales. **No cambie los reactivos de un kit por los de otro kit, a menos que el número de lote y la caducidad del reactivo sean los mismos.**

**Descripción del reactivo****Microplacas recubiertas (Anti-17-OHP en conejo)**

Las microplacas se recubren con un antisuero producido en conejos inmunizados, con un hapteno 17-OHP. Las microplacas están empaquetadas en bolsas de aluminio con cierre zipper, que contienen un desecante. Guarde las microplacas y/o las tiras no utilizadas de la placa en las bolsas con cierre zipper, con desecante. Cada microplaca está rotulada con una etiqueta de código de barras única.

Almacenamiento: En lugar seco a 2 – 25°C

Vencimiento: consulte la fecha de expiración impresa en la etiqueta

**Concentrado de conjugado enzimático (17-OHP:HRP)**

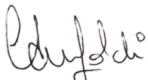
Un conjugado derivado de 17-OHP, con peroxidasa de rábano picante, danazol con un estabilizador enzimático.

**El concentrado de conjugado enzimático debe diluirse con el diluyente de conjugado, antes de su uso. Consulte la sección “Instrucciones de preparación de reactivos” en la página 9.**

Almacenamiento: 2 – 8°C

Vencimiento: consulte la fecha de expiración impresa en la etiqueta.

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 - M.N. 13795  
Dirección Técnica



### Diluyente de conjugado (17-OHP)

Tris-buffer, suero bovino y conservantes. **El diluyente de conjugado se usa para diluir el Conjugado concentrado, antes de su uso.**

**Consulte la sección “Instrucciones de preparación de reactivos” en la página 9.**

Almacenamiento: 2 – 8°C

Vencimiento: Consulte la fecha de expiración impresa en la etiqueta.

### Buffer de lavado concentrado (20X)

Una solución concentrada de solución salina buffereada con fosfato, que contiene un tensioactivo.

**El buffer de lavado concentrado debe diluirse con agua desionizada o destilada, antes de su uso.**

**Consulte la sección Instrucciones para la preparación de reactivos en la página 9.**

Almacenamiento: 2 – 25 °C

Vencimiento: Concentrado: Consulte la fecha de expiración impresa en la etiqueta.

El buffer de lavado diluido es estable durante 1 mes cuando se almacena entre 2 y 25°C.

### Revelador de color \*

La botella contiene una solución incolora de 3,3', 5,5' tetrametilbencidina en un solvente orgánico diluido con buffer citrato y peróxido de hidrógeno. \* **Este reactivo es sensible a la luz**, guárdelo en el recipiente marrón original. Este reactivo debe permanecer incoloro; si cambia de color, deséchelo.

Almacenamiento: 2 – 8°C. **Protegido de la luz.**

Vencimiento: consulte la fecha de expiración impresa en la etiqueta.

### Reactivo Stop

La botella contiene una solución diluida de fluoruro de sodio (NaF) y un colorante rojo.

Almacenamiento: 2 – 8°C.

Vencimiento: consulte la fecha de expiración impresa en la etiqueta.

### Estándares y Controles de analitos múltiples

Los estándares y los controles se prepararon con sangre humana total, ajustada a 55 % de hematocrito. Los seis estándares contienen concentraciones de 17-OHP adicionada, de aproximadamente cero, 10, 25, 50, 100 y 250 ng/mL de equivalente de suero. Cada tarjeta de control contiene tres diferentes concentraciones de 17-OHP, baja, media y alta, de aproximadamente 15, 40 y 90 ng/mL de equivalente de suero. Los estándares y controles son manchados sobre papel de recolección de muestras de sangre. Consulte la información sobre el rótulo para las concentraciones exactas de los estándares y los rangos de los controles, según lo obtenido en el laboratorio de control de calidad de Astoria Pacific. Cuando no se usan, guarde los estándares y controles sellados en la bolsa con cierre zipper con desecante.


Almacenamiento: En seco, a 2 – 8°C ó menos.

Vencimiento: Consulte la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta.

Las unidades del control y estándar se expresan en ng/mL de equivalente suero. Los valores se pueden convertir usando la siguiente fórmula:

$$2,2 \text{ ng/mL sangre} = 1 \text{ ng/mL suero (a un hematocrito del 55\%)}$$

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

## SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

### **Materiales requeridos pero no provistos para ambos procedimientos de Elución y Directo**

1. Perforadora de orificios de 3 mm (1/8 pulgada).
2. Fórceps de pinzas finas para recoger los discos perforados con muestras.
3. Tubo de plástico descartable, con tapa rosca; volumen >15 mL (preparación del conjugado)
4. Pipeta serológica para dispensar volúmenes de 10 mL (preparación buffer de lavado). Pipetas para dispensar de modo exacto volúmenes de 100 µL.
5. Pipetas multicanal para dispensar volúmenes de 350 µL o un lavador de placas automático.
6. Lector de microplacas con capacidad para lecturas en longitudes de onda de 650 nm.
7. Rotador de placas con capacidad de 100 – 150 RPM ó un agitador de placas.
8. Cubiertas para microplacas; selladores de placas o tapas para microplacas de plástico sólido, de baja evaporación (tapas con anillos de condensación y barreras de evaporación).
9. Probetas graduadas.
10. Agua desionizada o destilada.

### **Materiales adicionales requeridos sólo para el procedimiento de elución**

11. Microplacas de 96 pocillos con fondo redondeado no recubiertas.
12. Solución salina (0.85% NaCl).
13. Pipeta multicanal con puntas desechables para transferir con exactitud 15 µL de eluido.

### **Materiales adicionales requeridos sólo para el procedimiento directo**

14. Dispositivo de aspiración con capacidad para remover los discos de las placas recubiertas.

### **Advertencias y precauciones**

#### **Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.**

**ADVERTENCIA:** LA FUENTE DEL MATERIAL UTILIZADO EN LA PREPARACION DE COMPONENTES DE ORIGEN HUMANO FUE PUESTA A PRUEBA Y SE COMPROBÓ QUE NO REACCIONA A LA PRESENCIA DE HBsAg, anti-VIH 1 y 2 y anti-VHC POR METODOS APROBADOS POR FDA. NINGUN METODO DE PRUEBA CONOCIDO PUEDE BRINDAR UNA GARANTÍA COMPLETA, EN CUANTO A QUE LOS PRODUCTOS DERIVADOS DE ORIGEN HUMANO NO TRANSMITAN ENFERMEDADES.

**MANIPULE COMO SI FUERAN CAPACES DE TRANSMITIR ENFERMEDADES INFECCIOSAS**

Por favor refiérase a la Publicación del Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. Nº CDC 93 8395 para información respecto de procedimientos de seguridad de laboratorio, para la manipulación segura de materiales de origen humano.<sup>11</sup>

El desecho de todos los residuos debe realizarse de conformidad con las reglamentaciones locales y nacionales.

Este kit sólo debe ser utilizado por personal de laboratorio que ha recibido la capacitación adecuada en el uso de los equipos requeridos y que ha leído y comprendido las instrucciones de uso de este kit.

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Armaboldi  
M.P. 15533 - M.N. 13795  
Dirección Técnica

## Recolección, entrega, almacenamiento y preparación de muestra

### Importancia de la toma de muestras correcta

Para garantizar la integridad de los datos obtenidos en el ensayo, es fundamental que las muestras de neonatos entregadas para el ensayo, se recolecten y preparen correctamente.

Consulte la publicación del CLSI, “Blood Collection on Filter Paper for Neonatal Screening Programs”, para una completa descripción de las técnicas de recolección de sangre apropiadas.<sup>21</sup> Información adicional sobre la recolección de muestras puede encontrarse en la referencia 16.

El conocimiento de lo que constituye una muestra aceptable por parte del personal de laboratorio que realiza el ensayo también es extremadamente importante. La utilización de muestras insatisfactorias puede tener consecuencias negativas graves, como por ejemplo, la necesidad de tomar nuevas muestras y las consiguientes demoras para obtener los resultados de las pruebas, como así también producir datos de resultado de prueba no válidos. Los datos cuantitativos demostraron que los siguientes tipos de muestras recogidas incorrectamente o insatisfactorias, pueden tener efectos adversos sobre los resultados cuando se utiliza la prueba 17-OHP:<sup>32</sup>

- Muestra de cantidad insuficiente
- Muestra diluida
- Anillos
- Muestras coaguladas o en capas
- Otros

### Entrega y almacenamiento

Las muestras se deben enviar por correo o transportar al laboratorio dentro de las 24 horas después de la recolección. Se deben seguir las recomendaciones correctas para el envío y almacenamiento de muestras de manchas de sangre seca.<sup>17, 19, 22</sup>

17-OHP ha demostrado ser muy estable en muestras de manchas de sangre seca. El almacenamiento a temperatura ambiente por períodos de más de 7 meses no demostró deterioro significativo. El almacenamiento a 4 °C o con material desecante mejora la estabilidad.<sup>17</sup>

### Preparación-Perforación de discos de muestras para pruebas

Inspeccione visualmente las manchas de sangre y perfore los discos de muestras, de zonas similares encada mancha de sangre individual. NO perfore discos de muestras en áreas que están saturadas de modo incompleto con sangre, o áreas que incluyan marcas impresas o que estén cercanas al borde de la mancha de sangre.

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

## Precauciones del ensayo y posibles fuentes de errores


### Precauciones del ensayo

1. Todas las muestras de sangre de origen humano deben considerarse material potencialmente biopeligroso. Manipule todas las muestras de sangre como si fueran capaces de transmitir enfermedades infecciosas.<sup>11</sup>
2. Evite el contacto con el revelador de color. Contiene 3,3', 5,5' tetrametilbenzidina y peróxido de hidrógeno. El contacto con la piel y membranas mucosas puede causar irritación.
3. Todos los componentes del kit, las soluciones y las muestras de prueba deben estar a temperatura ambiente (18–25 °C) antes de comenzar el ensayo.
4. NO intercambie reactivos de un kit con los de otro kit a menos que ellos tengan el mismo vencimiento y sean del mismo lote. Los kits SPOTCHECK incluyen el mismo revelador de color, solución stop y buffer de lavado concentrado. Estos reactivos pueden intercambiarse entre kits, si ellos tienen el mismo vencimiento y número de lote.
5. NO utilice componentes del kit si expiró la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta.
6. NO utilice reactivos o soluciones que se hayan vuelto turbios o decolorados.
7. NO intercambie reactivos en ningún recipiente de contención utilizado para pipetear. Se debe utilizar un bol o recipiente determinado para cada tipo de reactivo, independientemente de si el recipiente de contención fue limpiado entre reactivos.
8. NO vierta reactivos no usados nuevamente en el recipiente original. Cuando utiliza un bol u otro recipiente de contención para pipetear reactivos, vierta sólo la cantidad requerida (volumen de trabajo) para realizar el ensayo. Todo reactivo no utilizado en el recipiente debe ser descartado. Se incluyó un volumen suficiente de cada reactivo, como para permitir que algún material se descarte en la realización del ensayo.

### Posibles fuentes de errores

- El peso al nacer, la edad gestacional y la edad al momento de tomar la muestra deben ser consideraciones primarias al establecer los niveles de valor de corte adecuados.
- La administración de dexametasona a la madre o al recién nacido puede resultar en resultados falso negativos.
- Las transfusiones del infante antes de la recolección de la muestra pueden también arrojar resultados anómalos.
- La recolección de muestras, el transporte y el almacenamiento correctos se detallan en la página 7.

  
 Oscar A. García  
 Socio Gerente  
 Cromoion

  
 CROMOION s.r.l.  
 Farm. Cecilia A. Amaboldi  
 M.P. 15533 • M.N. 13795  
 Dirección Técnica

## Preparación de los reactivos

### Conjugado de enzimas diluido para usar (17-OHP: HRP)

Combine un vial de Concentrado de conjugado enzimático transfiriendo su contenido al envase de diluyente de conjugado. Mezcle bien por inversión. No lo agite. Remueva la etiqueta del Concentrado de conjugado enzimático y colóquela en la botella de diluyente de conjugado. Indique la fecha de dilución en la línea correspondiente del rótulo, de la botella de diluyente de conjugado. El conjugado de enzimas diluido es estable por 30 días, a partir de la fecha de dilución, cuando se guarda refrigerado (2–8 °C).

### Buffer de lavado diluido para usar

Antes de utilizarlo, agregue 1 parte de concentrado a 19 partes de agua desionizada o destilada. Pueden formarse cristales en el vial sin abrir, después del almacenamiento refrigerado o durante el transporte. Inspeccione el vial antes de la dilución y si encuentra cristales, coloque el vial cerrado en un contenedor con agua tibia. Los cristales se disolverán en pocos minutos. Haga girar el vial para confirmarlo, antes de abrirlo y diluir el contenido.

Todos los componentes del kit, las soluciones y las muestras a ensayar, deben estar a temperatura ambiente (18–25 °C) antes de comenzar el ensayo.

## Procedimientos del ensayo

Hay dos procedimientos disponibles para realizar esta prueba. En el procedimiento número 1 (Elución), las perforaciones de manchas de sangre seca se colocan en microplacas no recubiertas, con pocillos de fondo redondeado y se incuban con solución salina hasta que la sangre haya eluido del papel. Una porción de este eluido se transfiere a la microplaca recubierta. En el procedimiento número 2 (Directo), los discos perforados con manchas desangre seca se colocan directamente en la microplaca recubierta.

### Procedimiento Número 1 (Elución)

1. Cree un mapa de la placa, designando las posiciones para todos los estándares, controles y muestras de neonatos. Ensaye los estándares y controles en duplicado. Las muestras de neonatos son ensayadas ya sea individualmente o por duplicado.
2. Perfore discos de muestra de diámetro 1/8 pulgadas (3 mm) de cada uno de los estándares, controles y muestras de neonatos y colóquelos dentro de los pocillos asignados sobre la microplaca sin recubrimiento de fondo redondo.
3. Pipetee 50 µL de solución salina en todos los pocillos. \*
4. Inspeccione la placa para asegurarse de que todos los discos están sumergidos.
5. Cubra la placa con una cubierta para placas.
6. Centrifugue la placa a 100–120 RPM o coloque en un agitador de placas, por un mínimo de 60 minutos, pero no más de 120 minutos.
7. Retire la placa del agitador o rotador y transfiera 15 µL del eluido dentro de los correspondientes pocillos sobre la microplaca recubierta anti-17-OHP.
8. Asegúrese de cambiar los tips de las pipetas después de cada transferencia, para prevenir la contaminación de la muestra anterior.

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

## SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

9. Sin demora, pipetee 100 µL del conjugado enzimático diluido, en todos los pocillos. Agite la microplaca a mano, con suavidad, para facilitar la mezcla del contenido o bien, coloque la microplaca en un agitador por 10 minutos.
10. Cubra la microplaca con una cubierta para placas.
11. Incube la microplaca durante un mínimo de 3 horas hasta un máximo de 18 horas a temperatura ambiente de 18–25 °C. \*\*
12. Al finalizar el período de incubación remueva cuidadosamente la cubierta de la placa y lave la placa 4 veces, con un mínimo de 300 µL de buffer de lavado diluido, por pocillo.
13. Agregue 100 µL de revelador de color en todos los pocillos.
14. Agite la microplaca a mano con suavidad para promover el mezclado completo del revelador de color dentro de todos los pocillos.
15. Cubra la microplaca con una cubierta para placas y colóquela en una centrífuga de placas, por 30 minutos a 18 – 25 °C. No es necesario incubar la placa en la oscuridad, pero no coloque las placas expuestas directamente a la luz del sol o donde habitualmente existan fluctuaciones de temperatura o corrientes de aire.
16. Retire la microplaca del agitador de placas y adicione 100 µL de solución stop a todos los pocillos.
17. Agite la microplaca a mano con suavidad, para promover el mezclado completo del reactivo stop dentro de los pocillos.
18. Determine la absorbancia de la luz con un lector de microplacas, con una longitud de onda establecida en 650 nm.

### Procedimiento número 2 (Directo - mancha de sangre seca)

1. Cree un mapa de la placa, designando las posiciones para todos los estándares, controles y muestras de neonatos. Ensaye los estándares y controles en duplicado. Las muestras de neonatos son ensayadas ya sea individualmente o por duplicado.
2. Perfore discos de muestra de diámetro 1/8 pulgadas (3 mm) de cada uno de los estándares, controles y muestras de neonatos y colóquelos directamente dentro de los pocillos asignados de la microplaca recubierta.
3. Agregue 100 µL del conjugado enzimático diluido en todos los pocillos. Agite la microplaca a mano con suavidad, para facilitar la mezcla del contenido.
4. Observe la microplaca, para asegurarse de que todos los discos de muestras estén completamente sumergidos en el conjugado enzimático.
5. Cubra la microplaca con una cubierta para placas y colóquela en un rotador de placas por 1 hora.
6. Remueva la microplaca de la centrífuga de placas y continúe con incubación estacionaria por un período adicional de 17 a 23 horas a 18 – 25 °C. \*\*
7. Al finalizar el período de incubación remueva cuidadosamente la cubierta de la placa y aspire o decante el contenido de todos los pocillos. Asegúrese de que todos los discos de muestras se han removido de los pocillos. Si decanta, seque la parte superior de la placa, con un material absorbente sin pelusa, para remover cualquier líquido residual.
8. Lave todos los pocillos, cuatro veces con buffer de lavado diluido para asegurar la eliminación de todo el conjugado enzimático no unido. Cada paso de lavado debe tener el volumen suficiente para llenar completamente cada pocillo hasta el borde, sin derramarse. Esto es especialmente importante si

## SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

las placas se dejaron decantar, ya que puede quedar conjugado residual sin unir, en la parte superior de los pocillos.

9. Agregue 100 µL de revelador de color en todos los pocillos.

10. Agite la microplaca a mano con suavidad, para promover el mezclado completo del revelador de color dentro de todos los pocillos.

11. Cubra la microplaca con una cubierta para placas y colóquela sobre el rotador de placas, por 30 minutos a 18 – 25 °C. No es necesario incubar la placa en la oscuridad, pero no coloque las placas expuestas directamente a la luz del sol o donde habitualmente existan fluctuaciones de temperatura o corrientes de aire.

12. Retire la microplaca del rotador de placas, cuidadosamente remueva la cubierta de la placa y adicione 100 µL de reactivo stop a todos los pocillos.


13. Agite la microplaca a mano con suavidad para promover el mezclado completo del reactivo stop, dentro de los pocillos.

14. Determine la absorbancia de la luz con un lector de microplacas con una longitud de onda establecida en 650 nm.

\* Si se está realizando más de una prueba SPOTCHECK® con la misma muestra de recién nacido usando el método de Elución, tales como 17-OHP y TSH, es posible utilizar una sola preparación de eluido. Puede aumentarse el número de discos y el volumen de solución salina, hasta tres discos en el mismo pocillo. Para cada disco adicional se agrega un volumen adicional de solución salina (1 disco – 50 µL de solución salina, 2 discos – 100 µL de solución salina, 3 discos – 150 µL de solución salina). El volumen de eluido para cada tipo de prueba puede variar. Consulte las instrucciones de uso adecuadas, para el volumen de eluido requerido.

\*\* Para incubación de más de 3 horas: si habitualmente existen fluctuaciones de temperatura o corrientes de aire en el laboratorio, recomendamos incubar en un ambiente de humedad, por ejemplo, en un recipiente plástico sellado, que contenga esponjas húmedas, y/o colocar las placas en una incubadora a temperatura ambiente para evitar que se sequen.

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Annaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

### Cálculo de los resultados

Prepare una curva estándar trazando un gráfico de la concentración conocida de cada estándar en el eje x y el valor de absorbancia correspondiente en el eje y. Las concentraciones desconocidas se determinan por comparación con esta curva estándar. Existen programas de software disponibles comercialmente, los cuales automatizarán todo el proceso. Los datos que se muestran abajo se procesaron usando StatLIA®, un programa de datos provisto por Brendan Scientific.

La curva estándar actual se traza usando un ajuste de curva logística de 5 parámetros. Abajo se muestra un gráfico de una curva estándar con fines comparativos. La media y los límites de confianza se exhiben mostrando el 95 % y 99 % de probabilidad de la respuesta de absorbancia, a partir de un grupo de ensayos realizados previamente.

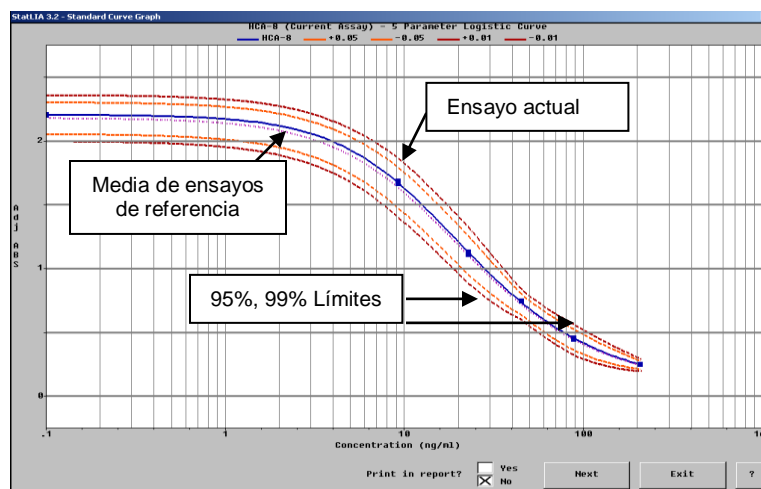


Figura 1 –Elución - toda la noche

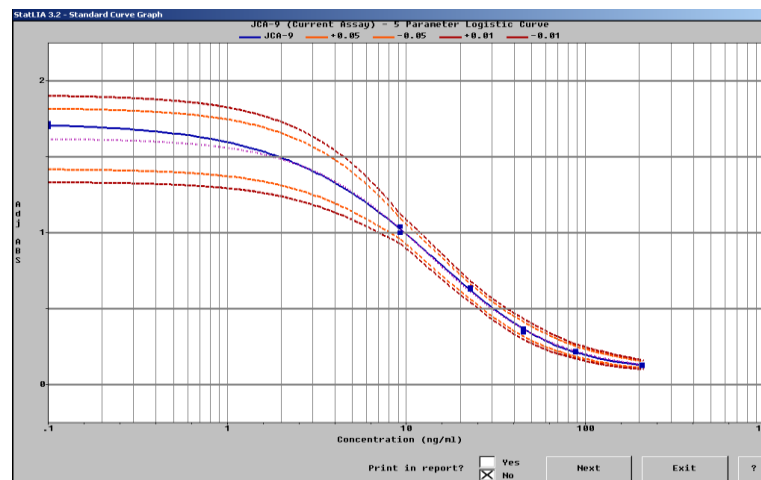


Figura 2 – Elución 3 Horas

  
 Oscar A. García  
 Socio Gerente  
 Cromoion

  
**CROMOION s.r.l.**  
 Farm. Cecilia A. Amaboldi  
 M.P. 15533 • M.N. 13795  
 Dirección Técnica



**Tabla 1: Ejemplo de resultados obtenidos para muestras de control interno**

	Elución toda la noche	Elución 3 Horas	Directo
Control 1	25,6	27,4	27,2
Control 2	52,6	54,2	52,9
Control 3	106,0	101,9	98,3

**Importante:** Las Figuras 1 y 2 se ofrecen sólo a modo de ejemplo. NO utilice esta curva en lugar de la curva estándar que se genera durante el tiempo del ensayo.

## Control de Calidad

La reproducibilidad de los valores de la curva estándar y de los valores del control debería estar dentro de los límites de la aceptabilidad del laboratorio. Las medidas de variabilidad más utilizadas se analizan en Westgard, et al.<sup>24</sup> Cada laboratorio debe establecer sus límites de aceptabilidad – los rangos del control son dados como guía solamente.

Si la precisión del ensayo no correlaciona con este estándar y la repetición excluye errores en la técnica, entonces compruebe los factores siguientes:

- Dispositivos de pipeteado y cronometraje.
- Calibración del instrumento.
- Fechas de vencimiento en las etiquetas de los reactivos y de las soluciones de trabajo preparadas.
- Condiciones de almacenamiento.
- Dispositivos de control de la temperatura.

No son apropiados resultados de extrapolación fuera del rango de la curva de calibración.

Se recomienda firmemente la participación en un programa de control de calidad externo, tal como “Newborn Screening Quality Assurance and Proficiency Testing Program” provisto por el Centro de Control de Enfermedades (CDC).<sup>33-37</sup>

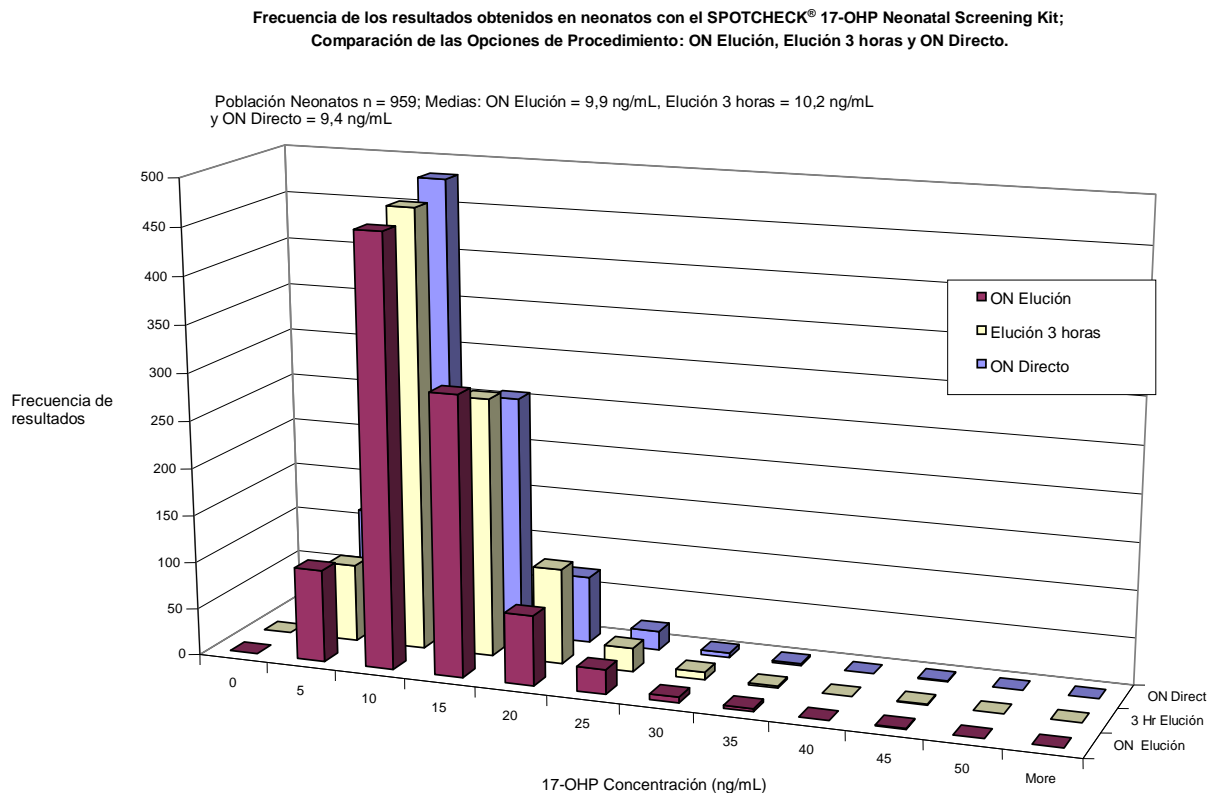
## Valores esperados e interpretación de los resultados

La concentración de 17-OHP en recién nacidos varía ampliamente, dependiendo de la edad al momento del muestreo, el peso al nacer, la edad gestacional y los nacimientos múltiples. En particular, el peso bajo al nacer (<2500 g) se ha relacionado con valores altos de 17-OHP y los bebés prematuros normales tienen valores de 17-OHP más altos, que los bebés a término normales.<sup>1</sup> Las referencias de la literatura también varían en el valor de corte, la edad gestacional, la edad al momento de tomar la muestra y los rangos de peso que se deben utilizar para las subpoblaciones. Es imperativo que cada laboratorio establezca sus propios valores de punto de corte para 17-OHP en su población. Esto sugiere que los valores de punto de corte separados se establecen en base al peso al nacer, edad del muestro y/o edad gestacional para minimizar los resultados falsos positivos.<sup>1, 2, 4, 5</sup>

El SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit se utilizó para evaluar una población de muestras de recién nacidos a ensayar (n = 959) que fueron obtenidos del Laboratorio de detección de rutina de recién nacidos del departamento de salud pública de los EE. UU. La distribución de la frecuencia de resultados obtenida por cada método SPOTCHECK® se presentan en la Figura 2, abajo.

## SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

**Figura 2: Frecuencia de los resultados obtenidos en recién nacidos cuando se ensaya con el SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit**



En un estudio de 444 recién nacidos cuyas muestras se tomaron para pruebas a 1-3 días de haber nacido y cuyos pesos al nacer fueron > 2500 g, las concentraciones de 17-OHP se determinaron utilizando cada uno de los métodos 17-OHP SPOTCHECK®. Las muestras se tomaron en papel de filtro S&S N° 903 y se guardaron por un máximo de 7 meses, antes de realizar la prueba SPOTCHECK®. En función de los resultados obtenidos, se pueden dar las siguientes pautas para las muestras tomadas a 1-3 días de edad, de recién nacidos con pesos al nacer > 2500 g. Los datos en la Tabla 2, abajo, muestran valores de los puntos de corte en los que debe considerarse realizar una nueva prueba u otro seguimiento.

**Tabla 2: Valores SPOTCHECK® esperados en los percentiles 95, 97,5 y 99 para una población de recién nacidos de > 2500 g y 1-3 días de edad al momento de tomar la muestra**

SPOTCHECK® O/N Directo		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad (días)	n	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
1-3	444	20,8	25,0	27,8
SPOTCHECK® O/N Elución		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad(días)	n	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
1-3	444	19,1	21,7	23,9
SPOTCHECK® Elución 3 horas		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad(días)	N	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
1-3	444	19,3	21,5	24,3

\* Los valores de los percentilos se obtuvieron según NCCLS C28-A2 usando la herramienta de análisis de datos "Rank and Percentile" de Excel de MS.

En un estudio de 391 recién nacidos, cuyas muestras se tomaron para pruebas a  $\geq 4$  días de haber nacido y cuyos pesos al nacer fueron  $\geq 2500$  g, las concentraciones de 17-OHP se determinaron utilizando cada uno de los métodos 17-OHP SPOTCHECK®. Las muestras se tomaron en papel de filtro S&S N° 903 y se guardaron por un máximo de 7 meses, antes de realizar la prueba

## SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

SPOTCHECK®. En función de los resultados obtenidos, se pueden dar las siguientes pautas para las muestras tomadas a  $\geq 4$  días de edad de recién nacidos, con pesos al nacer  $\geq 2500$  g. Los datos en la Tabla 3, abajo, muestran valores de los puntos de corte en que debe considerarse realizar una nueva prueba u otro seguimiento.

**Tabla 3: Valores SPOTCHECK® esperados en los percentiles 95, 97,5 y 99 para una población de recién nacidos de  $\geq 2500$  g y  $\geq 4$  días de edad al momento de tomar la muestra**

SPOTCHECK® O/N Directo		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad(días)	n	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
$\geq 4$	391	11,5	14,8	21,1
SPOTCHECK® O/N Elución		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad(días)	n	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
$\geq 4$	391	13,6	15,2	19,5
SPOTCHECK® 3 hr Elución		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad(días)	n	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
$\geq 4$	391	14,1	15,6	19,4

\* Los valores de los percentilos se obtuvieron según NCCLS C28 A-2 utilizando la herramienta de análisis de datos “Rank and Percentile” de Excel de MS

En el mismo estudio, se examinó una muestra pequeña (n = 91) de recién nacidos con pesos al nacer  $< 2500$  g utilizando los métodos de ensayo 17-OHP de SPOTCHECK®. El estudio demostró lo siguiente:

**Tabla 4: Valores SPOTCHECK® esperados en los percentiles 95, 97,5 y 99 para una población de recién nacidos de  $< 2500$  g y 1-3 días de edad al momento de tomar la muestra**

SPOTCHECK® O/N Directo		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad (días)	n	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
1-3	91	33,9	43,9	46,4
SPOTCHECK® O/N Elución		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad(días)	n	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
1-3	91	25,7	31,7	40,9
SPOTCHECK® Elución 3 horas		17-OHP (ng/mL suero)		
Edad(días)	n	95 <sup>th</sup> Percentilo	97,5 <sup>th</sup> Percentilo	99 <sup>th</sup> Percentilo
1-3	91	26,3	32,5	40,5

\* Los valores de los percentilos se obtuvieron según NCCLS C28 A-2 usando la herramienta de análisis de datos “Rank and Percentile” de Excel de MS.

Los valores ilustrados aquí se deben utilizar sólo como pautas y fueron calculados en base a muestras de una población específica, como las define el fabricante. Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de punto de corte para 17-OHP en su propia población.

### Características de funcionalidad

#### Precisión

Los estudios de precisión internos fueron guiados por el estándar NCCLS EP5-A2, “Evaluación de desempeño de precisión de los métodos de medición cuantitativos; Guía Aprobada, segunda edición. Fuentes de variabilidad incluyeron el uso de diferentes: operadores, días, y número de lotes de reactivos.

Las pruebas abarcaron un ensayo por día, con dos alícuotas de muestra por proceso, realizadas en 20 días diferentes, utilizando cada uno de los tres diferentes procedimientos de ensayo. Los tres procedimientos se designaron de la siguiente manera: 1) “Elución ON (toda la noche)”, 2) “Elución de 3 horas” y 3) “Directo ON DBS”, respectivamente. Los datos resultantes se utilizaron para

SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

calcular la repetibilidad y la precisión del dispositivo, como se describe en el estándar, para cada procedimiento.

**Tabla 5: Resumen de los Resultados y estimados de precisión para el SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit**

		ID de la muestra:		
		CDC 451* (25+ ng/mL)	CDC 452 (50+ ng/mL)	CDC 453 (100+ ng/mL)
<i>ON Elución</i>	<i>Recuento</i>	40	40	40
	<b>Media</b>	<b>28,2</b>	<b>56,1</b>	<b>108,1</b>
	DS	3,0	4,9	12,3
	%CV	10,7	8,8	11,4
<b>Desviación estándar intraensayo:</b>	<b>Sr</b>	<b>1,0</b>	<b>2,1</b>	<b>2,9</b>
<b>Desviación estándar entre-ensayos:</b>	<b>Sdd</b>	<b>2,9</b>	<b>4,5</b>	<b>12,1</b>
<b>Desviación estándar dentro del dispositivo:</b>	<b>ST</b>	<b>3,1</b>	<b>5,0</b>	<b>12,5</b>
<i>Elución 3 horas</i>	<i>Recuento</i>	40	40	40
	<b>Media</b>	<b>26,2</b>	<b>53,0</b>	<b>104,6</b>
	DS	3,4	4,1	11,9
	%CV	12,9	7,7	11,3
<b>Desviación estándar intraensayo:</b>	<b>Sr</b>	<b>1,9</b>	<b>2,2</b>	<b>5,4</b>
<b>Desviación estándar entre-ensayos:</b>	<b>Sdd</b>	<b>2,9</b>	<b>3,4</b>	<b>10,7</b>
<b>Desviación estándar dentro del dispositivo:</b>	<b>ST</b>	<b>3,4</b>	<b>4,1</b>	<b>12,0</b>
<i>ON Directo DBS</i>	<i>Recuento</i>	40	40	40
	<b>Media</b>	<b>29,5</b>	<b>57,9</b>	<b>108,6</b>
	DS	4,2	5,8	13,2
	%CV	14,1	10,0	12,2
	Min Max	23,3 39,4	45,2 71,9	85,4 159,3
<b>Desviación estándar intraensayo</b>	<b>Sr</b>	<b>1,5</b>	<b>4,4</b>	<b>11,7</b>
<b>Desviación estándar entre- ensayos:</b>	<b>Sdd</b>	<b>3,9</b>	<b>3,9</b>	<b>6,2</b>
<b>Desviación estándar dentro del dispositivo:</b>	<b>ST</b>	<b>4,2</b>	<b>5,8</b>	<b>13,3</b>

\*Enriquecido, según informes de los Centros para el Control y la Prevención de las Enfermedades. Informe anual del “Newborn Screening Quality Assurance Program 2005”

### Sensibilidad analítica

Se determinó la sensibilidad analítica para cada procedimiento, incluyendo el Procedimiento de elución durante toda la noche, Elución de 3 horas y Directo incubación toda la noche. La sensibilidad se definió como la concentración calculada que corresponde a la media de la absorbancia del estándar cero (n = 26) menos dos veces la desviación estándar de esas mismas mediciones de absorbancia.

El estándar cero se puso a prueba varias veces (n = 26) en un ensayo. La prueba se realizó con cada uno de los dos procedimientos, elución y directo, y extendiendo los márgenes de los tiempos de elución permitidos, tres horas y durante toda la noche para el procedimiento de elución.

La extrapolación más allá de los límites superior e inferior de la curva estándar o más allá de los límites de detección no es una práctica de laboratorio aceptable. Por lo tanto, todo resultado de muestra inferior a esas concentraciones calculadas debe informarse como inferior al límite de detección.

SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

Estos datos se ofrecen a modo de ejemplo y deben ser confirmados por cada laboratorio, que debe definir las concentraciones adecuadas.

**Tabla 6: Estudio de la sensibilidad analítica para el SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit**

	Elución durante toda la noche	Elución 3 horas	Directo toda la noche
Media de Absorbancia	2,506	1,648	2,604
Desviación estándar	0,04	0,02	0,06
Absorbancia-2 DS	2,426	1,608	2,484
Concentración calculada (ng/mL)	2,2	1,5	2,4

**Linealidad y recuperación**

**Linealidad, margen mensurable (informable) del ensayo**

El rango lineal del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit y el margen de medición (informable) es de aproximadamente 2,0 a 250 ng/mL, en función de los datos del estudio que se describe abajo y del estudio de sensibilidad que se describió anteriormente y está limitado por el valor asignado al estándar más alto de la curva de calibración.

Los resultados obtenidos en el ensayo que están fuera del rango de medición (informable) deben informarse ya sea como “inferiores a” o “mayores que” el límite bajo o alto establecido, respectivamente, como se aplica al resultado individual.

Se prepararon para el estudio, manchas de sangre seca, que representaban un rango de concentraciones de muestra. Los niveles de analitos de la muestra en ng/mL fueron: 10, 24.5, 39, 68, 97, 126, 155, 184, 213, 242, 271 y 300 (n = 12 concentraciones).

Se probaron cuatro alícuotas de cada muestra de los rangos de muestras preparadas, en cada uno de los dos ensayos, utilizando cada uno de los tres diferentes procedimientos de ensayo. Los tres procedimientos se designaron como: 1) “Elución ON (durante toda la noche)”, 2) “Elución de 3 h” y 3) “Directo ON DBS”, respectivamente. La media de la cantidad total de valores obtenidos para cada muestra (n = 8) en cada procedimiento se comparó con el valor esperado de las muestras. Los resultados de las comparaciones se describen abajo.

**Tabla 7: Resultados de los ensayos de Linealidad y % de Recuperación para el SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit**

		ON Elución		Elución 3 horas		ON Directo DBS	
Análisis de regresión lineal		y = 1,0036x - 0,3475 R <sup>2</sup> = 0,9994		y = 1,1236x - 9,3625 R <sup>2</sup> = 0,992		y = 1,1362x - 9,5154 R <sup>2</sup> = 0,99	
Muestra #	Esperado (ng/mL)	Actual (ng/mL)	Recuperación (%)	Actual (ng/mL)	Recuperación (%)	Actual (ng/mL)	Recuperación (%)
1	300	298,1	99,4	354,4	118,1	319,9	106,6
2	271	274,4	101,3	284,4	104,9	324,1	119,6
3	242	241,9	100,0	257,9	106,6	261,6	108,1
4	213	212,3	99,7	221,7	104,1	244,0	114,6
5	184	182,9	99,4	194,1	105,5	185,9	101,0
6	155	157,2	101,4	159,8	103,1	157,5	101,6

**SPOTCHECK™ 17-OHP EIA**

7	126	131,7	104,5	127,7	101,3	128,5	102,0
8	97	95,2	98,1	94,2	97,1	92,6	95,5
9	68	66,2	97,4	66,4	97,6	69,9	102,8
10	39	38,2	97,9	37,0	94,9	33,3	85,4
11	24,5	23,0	93,9	23,0	93,9	22,8	93,1
12	10	10,4	104,0	10,3	103,0	10,7	107,0
Recuperación media-General			99,7		102,5		103,1
Mínimo			93,9		93,9		85,4
Máximo			104,5		118,1		119,6

## Especificidad

### Reactividad cruzada

El porcentual de reactividad cruzada se determina dividiendo la concentración de analito (17-OHP) con 50 % de desplazamiento por la concentración del elemento interferente a 50 % de desplazamiento de la absorbancia que corresponde al estándar cero.


**Tabla 8: Estudio de reactividad cruzada del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit**

Nombre informal	Reactividad cruzada	Nombre informal	Reactividad cruzada
21-Desoxicortisol	2,4 %	Colesterol	< 0,01 %
16 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona	1,2 %	Corticosterona	< 0,01 %
11-Desoxicortisol	0,6%	Glucurónido de cortisol	< 0,01 %
Progesterona	0,5 %	Cortisona	< 0,01 %
5-Pregnen-3 $\beta$ ,17-Diol-20-one 3 sulfato	0,2 %	Sal de 21-sulfato de sodio cortisona	< 0,01 %
Cortisol	0,06 %	Dehidroisoandrosterona	< 0,01 %
Desoxicorticosterona	0,06 %	Sulfato de sodio de dehidroepiandrosterona	< 0,01 %
1-Dehidrotestosterona	< 0,01 %	Dexametasona	< 0,01 %
5 $\beta$ -Dihidrocortisol	< 0,01 %	Estriol	< 0,01 %
5 $\beta$ -Dihidrocortisona	< 0,01 %	Estrona	< 0,01 %
6 $\beta$ -Hidroxicortisol	< 0,01 %	Prednisolona	< 0,01 %
11-Dehidrocorticosteona	< 0,01 %	Prednisona	< 0,01 %
16 $\alpha$ -Hidroxipregnenolona	< 0,01 %	Pregnenolona	< 0,01 %
17 $\alpha$ -Estradiol	< 0,01 %	Sulfato de pregnenolona, sal de sodio	< 0,01 %
17 $\alpha$ -Hidroxipregnenolona	< 0,01 %	Spirolactona	< 0,01 %
17 $\beta$ -Estradiol	< 0,01 %	Testosterona	< 0,01 %
20 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona	< 0,01 %	Tetrahidrocortisol	< 0,01 %
Aldosterona	< 0,01 %	Tetrahidrocortisona	< 0,01 %

### Sustancias que interfieren

Se estudiaron las interferencias causadas por hemoglobina, bilirrubina conjugada y no conjugada y lípidos utilizando como guía los métodos que describe la NCCLS (documento EP7-A).<sup>27</sup> La hemoglobina y la bilirrubina (conjugadas y no conjugadas) no causaron interferencias detectables. Se

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

## SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

observó interferencia significativa en las soluciones de lípidos agregadas a la prueba de 17-OHP de SPOTCHECK®.

### Comparación de métodos

Se realizó un estudio retrospectivo para comparar los resultados obtenidos con el SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit y los obtenidos por un dispositivo de screening de 17-OHP en recién nacidos, disponible actualmente en el mercado. Las muestras de la prueba fueron entregadas al estudio como manchas de sangre seca de recién nacido ciegas, tomadas secuencialmente según las condiciones del examen de rutina del Laboratorio del Departamento de salud pública estadounidense. También se obtuvieron resultados del examen original de cada muestra, utilizando el kit de prueba de referencia del laboratorio que las entregó, para comparar los métodos.

En las Tablas 9-20, abajo, se resumen los resultados de la comparación de los métodos. (Las muestras interpretadas abajo como de “Seguimiento” no fueron confirmadas.)

**Tabla 9: Kit Referencia vs SPOTCHECK® O/N Directo**

Valores en los percentilos 99, 97,5 y 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y 0-1 días de edad a la toma de la muestra

99 <sup>th</sup> Percentilo					97,5 <sup>th</sup> Percentilo					95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
<b>Referencia</b>		< 27,5	$\geq 27,5$	Totales :	<b>Referencia</b>		< 25,8	$\geq 25,8$	Totales :	<b>Referencia</b>		< 21,8	$\geq 21,8$	Totales :
Normal	< 43,8 N=130	114	16	130	Normal	< 43,8 N=130	112	18	130	Normal	< 43,8 N=130	100	30	130
Seguimiento	$\geq 43,8$ N= 3	0	3	3	Seguimiento	$\geq 43,8$ N=3	0	3	3	Seguimiento	$\geq 43,8$ N=3	0	3	3
Totales:					Totales:					Totales:				

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening (Directo O/N) para esta población fueron los siguientes: media = 16,5 ng/mL, con un margen de 3,7 a 85,6 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 22,6 ng/mL, con un margen de 10,1 a 86,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 0,970 (Directo O/N SPOTCHECK®) + 6,569,  $R = 0,9570$

**Tabla 10: Kit Referencia vs SPOTCHECK® O/N Elución**

Valores en los percentiles 99, 97,5 y 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y 0-1 días de edad a la toma de la muestra

99 <sup>th</sup> Percentilo					97,5 <sup>th</sup> Percentilo					95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
<b>Referencia</b>		< 23,9	$\geq 23,9$	Totales :	<b>Referencia</b>		< 22,3	$\geq 22,3$	Totales:	<b>Referencia</b>		< 20,2	$\geq 20,2$	Totales:
Normal	< 43,8 N=130	106	24	130	Normal	< 43,8 N=130	103	27	130	Normal	< 43,8 N=130	101	29	130
Seguimiento	$\geq 43,8$ N=3	0	3	3	Seguimiento	$\geq 43,8$ N=3	0	3	3	Seguimiento	$\geq 43,8$ N=3	0	3	3
Totales:					Totales:					Totales:				

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit (Elución O/N) para esta población fueron los siguientes: media = 16,7 ng/mL, con un rango de 5,3 a 65,6 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 22,6 ng/mL, con un rango de 10,1 a 86,0 ng/mL.

**SPOTCHECK™ 17-OHP EIA**

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Kit Referencia) = 1,049 (Elución O/N SPOTCHECK®) + 5,066,  $R = 0,9257$

**Tabla 11: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® Elución 3 horas**

Valores en los percentiles 99, 97,5 y 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y 0-1 días de edad a la toma de la muestra

99 <sup>th</sup> Percentilo					97,5 <sup>th</sup> Percentilo					95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	Totales		SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	Totales		SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	Totales
<b>Referencia</b>		< 23,0	$\geq 23,0$		<b>Referencia</b>		< 21,7	$\geq 21,7$		<b>Referencia</b>		< 19,8	$\geq 19,8$	
Normal	< 43,8 N=130	104	26	130	Normal	< 43,8 N=130	103	27	130	Normal	< 43,8 N=130	99	31	130
Seguimiento	$\geq 43,8$ N=3	0	3	3	Seguimiento	$\geq 43,8$ N=3	0	3	3	Seguimiento	$\geq 43,8$ N=3	0	3	3
Totales:					Totales:					Totales:				
		104	29	133			103	30	133			99	34	133

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening (Elución de 3 h) para esta población fueron los siguientes: media = 17,3 ng/mL, con un rango de 5,1 a 71,1 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 22,6 ng/mL, con un rango de 10,1 a 86,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 0,998 (Elución SPOTCHECK®) + 5,410,  $R = 0,9291$

**Tabla 12: Kit de referencia vs SPOTCHECK® O/N Directo**

Valores en el percentil 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y 2-3 días de edad a la toma de la muestra

95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	Totales
<b>Referencia</b>		< 18,5	$\geq 18,5$	
Normal	< 29,2 N=118	113	5	118
Seguimiento	$\geq 29,2$ N=15	0	15	15
Totales:				
		113	20	133

Los resultados del SPOTCHECK® (Directo O/N) para esta población fueron los siguientes: media = 11,3 ng/mL, con un rango de 3,4 a 81,1 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 16,2 ng/mL, con un rango de 6,9 a 81,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,045 (Directo O/N SPOTCHECK®) + 4,392,  $R = 0,9785$

**Tabla 13: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® O/N Elución**

Valores en el percentil 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y 2-3 días de edad a la toma de la muestra

95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	Totales
<b>Referencia</b>		< 18,7	$\geq 18,7$	
Normal	< 29,2 N=118	114	4	118
Seguimiento	$\geq 29,2$ N=15	0	15	15
Totales:				
		114	19	133

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
**CROMOION s.r.l.**  
Farm. Cecilia A. Arnaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening (Elución O/N) para esta población fueron los siguientes: media = 12,2 ng/mL, con un rango de 3,4 a 67,5 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 16,2 ng/mL, con un rango de 6,9 a 81,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,156 (Elución O/N SPOTCHECK®) + 2,030,  $R = 0,9729$



SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

**Tabla 14: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® Elución 3 horas**

Valores en el percentil 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y 2-3 días de edad a la toma de la muestra

95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
Referencia		< 17,7	$\geq 17,7$	Totales:
Normal	< 29,2 N=118	115	3	118
Seguimiento	$\geq 29,2$ N=15	0	15	15
Totales:		115	18	133

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit (Elución de 3 horas) para esta población fueron los siguientes: media = 12,8 ng/mL, con un rango de 4,5 a 69,6 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 16,2 ng/mL, con un rango de 6,9 a 81,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,150 (Elución SPOTCHECK®) + 1,495,  $R = 0,9691$

**Tabla 15: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® O/N Directo**


Valores en los percentiles 97,5 y 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y  $> 4$  días de edad a la toma de la muestra

97,5 <sup>th</sup> Percentilo					95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
Referencia		< 14,8	$\geq 14,8$	Totales:	Predicate		< 11,5	$\geq 11,5$	Totales:
Normal	< 21,9 N=192	181	11	192	Normal	< 21,9 N=192	170	22	192
Seguimiento	$\geq 21,9$ N=5	0	5	5	Seguimiento	$\geq 21,9$ N=5	0	5	5
Totales:		181	16	197	Totales:		170	27	197

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit (Directo O/N) para esta población fueron los siguientes: media = 7,3 ng/mL, con un rango de 2,2 a 22,6 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 9,5 ng/mL, con un rango de 2,7 a 31,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,090 (Directo O/N SPOTCHECK®) + 1,565,  $R = 0,9538$

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

**Tabla 16: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® O/N Elución**

Valores en los percentiles 97,5 y 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y  $\geq 4$  días de edad a la toma de la muestra

97,5 <sup>th</sup> Percentilo					95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
<b>Referencia</b>		< 15,2	$\geq 15,2$	Totales:	<b>Referencia</b>		< 13,6	$\geq 13,6$	Totales:
Normal	< 21,9 N=192	181	11	192	Normal	< 21,9 N=192	178	14	192
Seguimiento	$\geq 21,9$ N=5	1	4	5	Seguimiento	$\geq 21,9$ N=5	0	5	5
Totales:		182	15	197	Totales:		178	19	197

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit (Elución O/N) para esta población fueron los siguientes: media = 7,8 ng/mL, con un rango de 1,4 a 26,5 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 9,5 ng/mL, con un margen de 2,7 a 31,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,070 (Elución O/N SPOTCHECK®) + 1,172,  $R = 0,9142$

**Tabla 17: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® Elución 3 horas**

Valores en los percentiles 97,5 y 95 para una población de bebés de  $\geq 2500$  g y  $\geq 4$  días de edad a la toma de la muestra

97,5 <sup>th</sup> Percentilo					95 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
<b>Referencia</b>		< 15,6	$\geq 15,6$	Totales:	<b>Referencia</b>		< 14,1	$\geq 14,1$	Totales:
Normal	< 21,9 N=192	176	16	192	Normal	< 21,9 N=192	174	18	192
Seguimiento	$\geq 21,9$ N=5	0	5	5	Seguimiento	$\geq 21,9$ N=5	0	5	5
Totales:		176	21	197	Totales:		174	23	197

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit (Elución de 3 h) para esta población fueron los siguientes: media = 8,3 ng/mL, con un rango de 2,2 a 28,4 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 9,5 ng/mL, con un rango de 2,7 a 31,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,024 (Elución 3 horas SPOTCHECK®) + 1,081,  $R = 0,9350$

**Tabla 18: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® O/N Directo**

Valores en los percentiles 99 y 97,5 para una población de bebés de 1400-2500 g y 1-6 días de edad a la toma de la muestra  
Percentilo 99 (100)

99 <sup>th</sup> (100 <sup>th</sup> ) Percentilo					97,5 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
<b>Referencia</b>		< 46,0	$\geq 46,0$	Totales:	<b>Referencia</b>		< 43,9	$\geq 43,9$	Totales:
Normal	< 45,1 N=28	28	0	28	Normal	< 40,3 N=26	26	0	26
Seguimiento	$\geq 45,1$ N = 2	1	1	2	Seguimiento	$\geq 40,3$ N = 4	3	1	4
Totales:		29	1	30	Totales:		29	1	30

### SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening kit (Directo O/N) para esta población fueron los siguientes: media = 19,3 ng/mL, con un rango de 6,5 a 47,8 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 25,5 ng/mL, con un rango de 9,0 a 65,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,22 (Directo O/N SPOTCHECK®) + 1,971,  $R = 0,9556$

**Tabla 19: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® O/N Elución**

Valores en los percentiles 99 y 97.5 para una población de bebés de peso 1400-2500 g y 1 a 6 días de edad en la toma de muestra

99 <sup>th</sup> (100 <sup>th</sup> ) Percentilo					97,5 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
<b>Referencia</b>		< 31,7	≥ 31,7	Totales:	<b>Referencia</b>		< 28,4	≥ 28,4	Totales:
Normal	< 45,1 N=28	24	4	28	Normal	< 40,3 N=26	23	3	26
Seguimiento	≥ 45,1 N=2	1	1	2	Seguimiento	≥ 40,3 N=4	1	3	4
Totales:		25	5	30	Totales:		24	6	30

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Screening Kit (Elución O/N) para esta población fueron los siguientes: media = 19,2 ng/mL, con un rango de 6,7 a 40,2 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 25,5 ng/mL, con un rango de 9,0 a 65,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,234 (Directo O/N SPOTCHECK®) + 1,812,  $R = 0,8770$

**Tabla 20: Kit de Referencia vs SPOTCHECK® Elución 3 horas**

Valores en los percentiles 99 y 97,5 para una población de bebés de 1400-2500 g y 1-6 días de edad a la toma de la muestra

99 <sup>th</sup> (100 <sup>th</sup> ) Percentilo					97,5 <sup>th</sup> Percentilo				
	SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento			SPOTCHECK®	Normal	Seguimiento	
<b>Referencia</b>		< 33,3	≥ 33,3	Totales :	<b>Referencia</b>		< 27,7	≥ 27,7	Totales :
Normal	< 45,1 N=28	26	2	28	Normal	< 40,3 N=26	23	3	26
Seguimiento	≥ 45,1 N=2	1	1	2	Seguimiento	≥ 40,3 N=4	2	2	4
Totales:		27	3	30	Totales:		25	5	30

Los resultados del SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit (Elución de 3 h) para esta población fueron los

siguientes: media = 19,3 ng/mL, con un rango de 6,6 a 39,2 ng/mL; en tanto que los resultados del kit de referencia fueron: media = 25,5 ng/mL, con un rango de 9,0 a 65,0 ng/mL.

Se encontró que la correlación fue:  $y$  (Referencia) = 1,174 (Elución de 3 h de SPOTCHECK®) + 2,795,  $R = 0,8421$

SPOTCHECK™ 17-OHP EIA  
**REFERENCIAS**

1. Frias J, Levine LS, Oberfield SE, et al. Technical Report: Congenital Adrenal Hyperplasia Section on Endocrinology and Committee on Genetics. J Pediatr. 2000 Dec; 106(6):1511-1518.
2. New MI. An update of Congenital Adrenal Hyperplasia. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2004; 1038(1):14-43.
3. New MI. Molecular genetics and the characterization of steroid 21-hydroxylase deficiency. Endocr Res. 1986; 12(4); 505-522.
4. Therrell BL. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. Endocrinol Metab Clin North Am. 2001 Mar; 30(1):15-30.
5. National Newborn Screening & Genetics Resource Center. The National Newborn Screening Report-2000:118-123.
6. Zachmann M, Tassinari D, Prader A. Clinical and biochemical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency. A study of 25 patients. JCEM 1983; 56:222-229.
7. Votava F, Török D, Kovacs J, et al. Estimation of the false-negative rate in newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. Eur J Endocrinol. 2005 Jun; 152(6):869-874.
8. Larsson A, Hagenfeldt L, von Dobeln U, et al. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia using 17-hydroxyprogesterone assay in filter paper blood spots. Horm Res. 1988; 30(6):235-240.
9. Thompson R, Seargeant L, Winter JS. Screening for congenital adrenal hyperplasia: distribution of 17alpha-hydroxyprogesterone concentrations in neonatal blood spot specimens. J Pediatr. 1989 Mar; 114(3):400-404.
10. Allen DB, Hoffman GL, Fitzpatrick P, et al. Improved precision of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia using weight-adjusted criteria for 17-hydroxyprogesterone levels. J Pediatr. 1997 Jan; 130(1):128-33.
11. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th Edition. U.S. Department of Health and Human Services, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, Washington, D.C., USA, 1999.
12. Minutti CZ, Lacey JM, Magera MJ, et al. Steroid Profiling by Tandem Mass Spectrometry Improves the Positive Predictive Value of Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. JCEM 2004; 89(8):3687-3693.
13. Nordenstom, A, Thilen A, Hagenfeldt L, et al. Genotyping is a Valuable Diagnostic Complement to Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency. 1999; 84(5):1505-1509.
14. Krone N, Roscher AA, Shwarz HP, et al. Comprehensive analytical strategy for mutation screening in 21-hydroxylase deficiency. Clin Chem. 1998; 44(10):2075-2082.
15. Kosel S, Burggraf S, Fingerhut R, et al. Rapid second-tier molecular genetic analysis for congenital adrenal hyperplasia attributable to steroid 21-hydroxylase deficiency. Clin Chem. 2005 Feb; 51(2):298-304.
16. Mei JV, Alexander JR, Adam BW, et al. Use of Filter Paper for the Collection and Analysis of Human Whole Blood Specimens. Journal of Nutrition 2001; 131:1631S-1636S.

SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

17. Török D, Mühl A, Votava F, et al. Stability of 17 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone in Dried Blood Spots after Autoclaving and Prolonged Storage. Clin Chem. 2002; 48(2):370-372.
18. Shimozawa K, Saisho S, Yata J, et al. Age-related changes in serum 17-hydroxypregnenolone and 17-hydroxypregnenolone sulfate concentrations in human infancy and childhood. Endocrinol Jpn. 1988 Apr; 35(2):189-195.
19. Knudsen RC, Slazyk WE, Richmond JY, et al. Guidelines for the Shipment of Dried Blood Spot Specimens. Infant Screening 1993 Mar; 16(1): [1 p.].
20. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. Clin Chem. 1981 Mar; 27(3):493-501.
21. CLSI. Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard – Sixth Edition. CLSI document NBS01-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
22. Guidelines for the shipment of dried blood spot specimens. Safety and Health monograph. U.S. Department of Health and Human Services, Washington, D.C., USA, May, 1993.
23. National Newborn Screening & Genetics Resource Center/Association of Public Health Laboratories Newborn Screening Questionnaire. National Newborn Screening Report -2000. NNSGRC website.
24. Working Group on Neonatal Screening of the European Society for Pediatric Endocrinology. (2001) Procedure for neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-Hydroxylase deficiency. Horm. Res. 55, 201-205.
25. European Committee for Standardization (CEN). Stability testing of in vitro diagnostic reagents. Mar 2002; EN 13640:1-11.
26. Tholen DW, Kroll M, Astles JR, et al. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. NCCLS EP6-A 2003;23(16).
27. Powers DM, Boyd JC, Glick MR, Miller GW. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline. NCCLS EP7-A 2002;6(13).
28. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline (2<sup>nd</sup> ed.) NCCLS EP5-A2 2004; 24(25).
29. Krouwer JS, Tholen DW, Garber CC, et al. Methods Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (2<sup>nd</sup> ed.) NCCLS EP9-A2 2002; 22(19).
30. Wong T, Shackleton CH, Covey TR, et al. Identification of the steroids in neonatal plasma that interfere with 17 alpha-hydroxyprogesterone radioimmunoassay. Clin Chem. 1992 Sep; 38(9):1830-7.
31. Honour JW, Torresani T. Evaluation of Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. Hormone Research 2001; 55:206-211.
32. Sherwin J, Pass K, Kalman L, et al. Web Conference on Unsatisfactory Newborn Screening Specimens: Interpretations, Studies and Current Trends. 2005 May 17, Association of Public Health Laboratories; 2005 107p.
33. Center for Disease Control and Prevention/Department of Health & Human Services. Newborn Screening Quality Assurance Program 2005 Annual Summary Report; 23, Jan 2006.

  
Oscar A. Garcia  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farrn. Ceclia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

SPOTCHECK™ 17-OHP EIA

34. Centers for Disease Control and Prevention/Association of Public Health Laboratories. Newborn Screening Quality Assurance Program 2005 Annual Summary Report, January 2006;23.
35. Centers for Disease Control and Prevention /Association of Public Health Laboratories. Newborn Screening Quality Assurance Program Proficiency Testing Quarterly Report, 2005;18(1-3).
36. Centers for Disease Control and Prevention /Association of Public Health Laboratories. Newborn Screening Quality Assurance Program Proficiency Testing Quarterly Report, 2006;19(1-3).
37. Centers for Disease Control and Prevention / National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (4<sup>th</sup> ed). CDC 93-8395, Washington DC 1999.

Astoria-Pacific, Inc.

15130 SE 82nd Drive  
Clackamas, OR 97015USA  
Teléfono: +1 877 536 2111  
www.astoria-pacific.com

PN 513-0048 Rev. D

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Ceilia A. Armaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica

# ROTULO EXTERNO

# SPOTCHECK

REF 85-2000-05KE  
**17-OHP Microplate Kit, 480 Test**

An Enzyme Immunoassay (EIA) for the Quantitative Determination of  
**17 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone (17-OHP) Levels in Neonates**

*Inmunoensayo enzimático (IEE) para la determinación cuantitativa de los niveles de  
17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona (17-OHP) en neonatos*

### Contents/Contiendos:


85-0105-05	<b>Wash Buffer Concentrate</b> Concentrado de tampón de lavado	<b>1 Bottle</b> 1 Botella
85-0115-05K	<b>Stopping Reagent</b> Reactivo de terminación	<b>1 Bottle</b> 1 Botella
85-0125-05K	<b>Color Developer</b> Revelador de color	<b>1 Bottle</b> 1 Botella
85-2035-P2/P3	<b>17-OHP Antibody Coated Microplates</b> Microplacas impregnadas con anticuerpos 17-OHP	<b>5 Plates</b> 5 Placas
85-2045-05K	<b>17-OHP Conjugate Concentrate</b> Concentrado de conjugado 17-OHP	<b>1 Vial</b> 1 Frasco
85-2055-05K	<b>17-OHP Conjugate Diluent</b> Diluyente de conjugado de 17-OHP	<b>1 Bottle</b> 1 Botella
85-0905-P3K	<b>Standards &amp; Controls (DBS)</b> Estándar y Controles (MSS)	<b>1 Set</b> 1 Juego

 For in vitro Diagnostic Use  
 Store 2-8°C  
 See Product Insert

LOT 111111  11111111111



(01)0000000000000(17)111111(10)111111

 **ASTORIA-PACIFIC** 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA

REF 85-2000-05KE **17-OHP Microplate Kit, 480 Test**

LOT 111111  11111111111

 Store 2-8°C

 **ASTORIA-PACIFIC** 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA  
511-0000 20171200

  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion

  
CROMOION s.r.l.  
Farm. Cecilia A. Armaboldi  
M.P. 15533 - M.N. 13795  
Dirección Técnica




# ROTULOS INTERNOS




**SPOTCHECK**  REF 85-0105-05  
Wash Buffer Conc., Makes 1 L


  **LOT** XXXXXX  XXXXXXXXXXXX

**IVD**  Prepared By \_\_\_\_\_  
Prepared On \_\_\_\_\_


**ASTORIA-PACIFIC** 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA




**SPOTCHECK**  REF 85-0115-05K  
Stopping Reagent, 60 mL


  **LOT** XXXXXX  XXXXXXXXXXXX

**IVD**  Prepared By \_\_\_\_\_  
Prepared On \_\_\_\_\_


**ASTORIA-PACIFIC** 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA




**SPOTCHECK**  REF 85-0125-05K  
Color Developer, 60 mL


  **LOT** XXXXXX  XXXXXXXXXXXX

**IVD**  Prepared By \_\_\_\_\_  
Prepared On \_\_\_\_\_


**ASTORIA-PACIFIC** 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA




**SPOTCHECK**  REF 85-2035-P3  
17-OHP Antibody Coated Plates (3)


  **LOT** XXXXXX  XXXXXXXXXXXX

**IVD**  Prepared By \_\_\_\_\_  
Prepared On \_\_\_\_\_

**ASTORIA-PACIFIC** 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA

**SPOTCHECK**  REF 85-2035-P2  
17-OHP Antibody Coated Plates (2)


  **LOT** XXXXXX  XXXXXXXXXXXX





**IVD**  Prepared By \_\_\_\_\_  
Prepared On \_\_\_\_\_



**ASTORIA-PACIFIC** 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA


  
Oscar A. García  
Socio Gerente  
Cromoion


  
**CROMOION s.r.l.**  
Farm. Cecilia A. Amaboldi  
M.P. 15533 • M.N. 13795  
Dirección Técnica





**SPOTCHECK**  REF 85-2045-05K  
 17-OHP Conjugate Conc, Makes 60 mL





 LOT XXXXXX
  XXXXXXXXXXXX



 Prepared By \_\_\_\_\_ On \_\_\_\_\_


 ASTORIA-PACIFIC 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA


**SPOTCHECK**  REF 85-2055-05K  
 17-OHP Conjugate Diluent, 60 mL





 LOT XXXXXX
  XXXXXXXXXXXX



 Prepared By \_\_\_\_\_

 Prepared On \_\_\_\_\_

 ASTORIA-PACIFIC 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA

**SPOTCHECK**  REF 85-0905-P3K  
 DBS Standards & Controls Set

 LOT XXXXXX
  XXXXXXXXXXXX



 ASTORIA-PACIFIC 15130 SE 82nd DR CLACKAMAS OREGON 97015 USA



---

**DBS Standard & Control Set - Multi-analyte**

**Contents:**

85-DBS-01K	Controls Card	1 Card
85-DBS-02K	Standards Card	2 Cards

 For *in vitro* Diagnostic Use
  Contains human blood

 Store 2-8°C
  Keep Dry






**Standard Concentrations and Control Ranges**






T4 (µg/dL)		TSH (µIU/mL)		17-OHP (ng/mL)	
Zero	0	Zero	0	Zero	0
A	XXXXX	A	XXXXX	A	XXXXX
B	XXXXX	B	XXXXX	B	XXXXX
C	XXXXX	C	XXXXX	C	XXXXX
D	XXXXX	D	XXXXX	D	XXXXX
E	XXXXX	E	XXXXX	E	XXXXX
C1	XXXXXXXXXX	C1	XXXXXXXXXX	C1	XXXXXXXXXX
C2	XXXXXXXXXX	C2	XXXXXXXXXX	C2	XXXXXXXXXX
C3	XXXXXXXXXX	C3	XXXXXXXXXX	C3	XXXXXXXXXX

511-0098 20171208

  
 Oscar A. Garía  
 Socio Gerente  
 Cromoion

  
 CROMOION s.r.l.  
 Farm. Cecilia A. Amaboldi  
 M.P. 15533 - M.N. 13795  
 Dirección Técnica

Zero	A	B	C	D	E
Refer to diagram above for blood spot identifications; refer to bag label for blood spot concentrations.					
<b>Standards Card - Multi-Analyte</b>					
Contains T4, TSH and 17-OHP			REF 85-DBS-02K		
 For <i>in vitro</i> Diagnostic Use			LOT XXXXXXXX  XXXXXXXXXXXXX		
 Store 2-8°C					
 Keep Dry					
					

C1	C2	C3	C1	C2	C3
Refer to diagram above for blood spot identifications; refer to bag label for blood spot concentrations.					
<b>Control Card - Multi-Analyte</b>					
Contains T4, TSH and 17-OHP			REF 85-DBS-01K		
 For <i>in vitro</i> Diagnostic Use			LOT XXXXXXXX  XXXXXXXXXXXXX		
 Store 2-8°C					
 Keep Dry					
					

## SOBRE RÓTULO QUE SE AGREGA A LA CAJA DEL PRODUCTO

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: **CROMOION S.R.L.**  
 Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. – Argentina  
 Tel./Fax (011) 4644-3205/06  
 Legajo empresa 908  
 Directora Técnica: Dra. Cecilia Arnaboldi - M.N. 13795  
 Producto Médico – Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos  
**USO PROFESIONAL EXCLUSIVO**  
 Uso Diagnóstico In Vitro  
  
 Certif./PM: **908-220**  
  
 Autorizado por la ANMAT  
 Ministerio de Salud – República Argentina  
**VER INSTRUCCIONES DE USO**

  
 Oscar A. García  
 Socio Gerente  
 Cromoion

  
**CROMOION s.r.l.**  
 Farm. Cecilia A. Arnaboldi  
 M.P. 15533 • M.N. 13795  
 Dirección Técnica



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:**

**Referencia:** CROMOION SRL. ROTULOS E INSTRUCCIONES DE USO

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 32 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica  
Date: 2023.06.14 08:46:57 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2023.06.14 08:46:59 -03:00



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

**Certificado - Redacción libre**

**Número:**

**Referencia:** 1-0047-3110-001252-23-7

---

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN  
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente Nº 1-0047-3110-001252-23-7

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por CROMOION S.R.L. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

**DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS**

Nombre Descriptivo: Reactivo para determinación cuantitativa de 17 alfa-hidroxiprogesterona en neonatos

Marca comercial: SPOTCHECK

Modelos:

SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit

Indicación/es de uso:

El SPOTCHECK® 17-OHP Neonatal Screening Kit está diseñado para la medición cuantitativa de las concentraciones de 17 alfa-hidroxiprogesterona (17-OHP) en muestras de sangre neonatal que se recogieron en

papel de recolección de muestras. Los resultados se utilizan para evaluar a los recién nacidos en busca de hiperplasia suprarrenal congénita clásica (HSC).

Forma de presentación: El kit para 480 tests se compone de:

- Microplacas recubiertas (Anti-17-OHP de conejo): 5 placas
- Concentrado de conjugado enzimático (17-OHP-HRP monoclonal de ratón): 1 x 6 mL
- Diluyente de conjugado (17-OHP): 1 x 60 mL
- Buffer de lavado concentrado (20X): 1 x 50 mL
- Revelador de color; 1 x 60 mL
- Reactivo stop: 1 x 60 mL
- Estándares y controles de analitos múltiples (TSH/T4/17-OHP): 2 tarjetas de Controles y 2 tarjetas de estándares

Período de vida útil: 24 meses, conservado entre 2-8° C

Nombre del fabricante:  
ASTORIA-PACIFIC INC.

Lugar de elaboración:  
15130 S.E. 82ND DR Clackamas, OR USA 97015

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 908-220 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-001252-23-7

N° Identificadorio Trámite: 46428

AM