



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

DISPOSICIÓN N° 8560

BUENOS AIRES, 16 OCT 2015

VISTO el expediente N° 1-47-10855/13-4 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma DIAGNOS MED S.R.L. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado NEONATAL MSUD SCREENING ASSAY/ MÉTODO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE LA ORINA CON OLOR A JARABE DE ARCE EN RECIÉN NACIDOS, UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE SECA EN PAPEL DE FILTRO. EL KIT NO DEBE SER USADO COMO PRUEBA DE CONFIRMACIÓN O PARA SEGUIMIENTO DE TERAPIA.

Que a fojas 166 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 la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

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

d



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

DISPOSICIÓN Nº 8560

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos Nº 1490/92, 1886/14 y 1368/15.

Por ello;

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

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso in Vitro denominado NEONATAL MSUD SCREENING ASSAY/ MÉTODO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE LA ORINA CON OLOR A JARABE DE ARCE EN RECIÉN NACIDOS, UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE SECA EN PAPEL DE FILTRO. EL KIT NO DEBE SER USADO COMO PRUEBA DE CONFIRMACIÓN O PARA SEGUIMIENTO DE TERAPIA, el que será elaborado por ZENTECH: Liège Science Park – Avenue du Pré-Aily 10. B – 4031 Angleur (BÉLGICA) e importado terminado por la firma DIAGNOS MED S.R.L., en envases conteniendo: 480 Y [1920] DETERMINACIONES, CONTENIENDO: CALIBRADORES Y CONTROLES (1 [2] JUEGOS DE TARJETAS DE MANCHAS DE SANGRE SECA, CONTENIENDO 5 CALIBRADORES Y 2 CONTROLES), TAMPÓN DE ELUCIÓN (1 [5] VIALES x 50 ml), ENZIMA (1 [5] VIALES x 20 ml LIOFILIZADOS), COENZIMA (1 [5] VIALES x 20 ml LIOFILIZADOS), REACTIVO DE COLOR (1 [5] VIALES x 40 ml), ESTIMULADOR DEL COLOR (1 [5] VIALES x 4 ml) y TAMPÓN DE DILUCIÓN (1 [5]



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

DISPOSICIÓN Nº

8 5 6 0

VIALES x 10 ml), con una vida útil de DIECIOCHO (18) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C y que la composición se detalla a fojas 96.

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 96 a 97, 100 a 101, 104 a 105 y 154 a 165. Desglosándose fojas 104 a 105 y 154 a 157 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

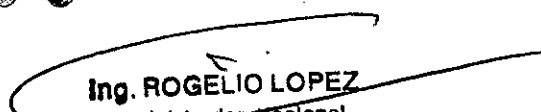
ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MEDICA se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTÍCULO 5º.- 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 y el certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

EXPEDIENTE Nº 1-47-10855/13-4

DISPOSICIÓN Nº: **8 5 6 0**

Fd


Ing. ROGELIO LOPEZ
Administrador Nacional
A.N.M.A.T.



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

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN DE VENTA DE
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-10855/13-4

Se autoriza a la firma DIAGNOS MED S.R.L. a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso ~~in vitro~~ denominado NEONATAL MSUD SCREENING ASSAY/ MÉTODO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE LA ORINA CON OLOR A JARABE DE ARCE EN RECIÉN NACIDOS, UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE SECA EN PAPEL DE FILTRO. EL KIT NO DEBE SER USADO COMO PRUEBA DE CONFIRMACIÓN O PARA SEGUIMIENTO DE TERAPIA. Envases conteniendo: 480 Y [1920] DETERMINACIONES, CONTENIENDO: CALIBRADORES Y CONTROLES (1 [2] JUEGOS DE TARJETAS DE MANCHAS DE SANGRE SECA, CONTENIENDO 5 CALIBRADORES Y 2 CONTROLES), TAMPÓN DE ELUCIÓN (1 [5] VIALES x 50 ml), ENZIMA (1 [5] VIALES x 20 ml LIOFILIZADOS), COENZIMA (1 [5] VIALES x 20 ml LIOFILIZADOS), REACTIVO DE COLOR (1 [5] VIALES x 40 ml), ESTIMULADOR DEL COLOR (1 [5] VIALES x 4 ml) y TAMPÓN DE DILUCIÓN (1 [5] VIALES x 10 ml). Vida útil: DIECIOCHO (18) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C. Se le asigna la categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones establecidas en la Ley Nº 16.463 y Resolución Ministerial Nº 145/98. Lugar de elaboración: ZENTECH. Liège Science Park - Avenue du Pré-Aily 10. B - 4031 Angleur (BÉLGICA). En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá

constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA
ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA. Certificado nº 16 OCT 2015

008308

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA

Buenos Aires, 16 OCT 2015

DR. ROGELIO LOPEZ
Administrador Nacional
A.N.M.A.T.

Firma y sello

[Handwritten marks]

Neonatal MSUD
E-IV-480 / E-IV-1920

ENSAYO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACION DE ENFERMEDAD DE LA URINA CON OLOR A JARABE DE ARCE EN RECIÉN NACIDOS.

PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO
USO "IN VITRO"

NUMERO DE LOTE:
FECHA DE VENCIMIENTO:
CANTIDAD DE REACTIVOS SUFICIENTE PARA 480/1920 DETERMINACIONES
CONSERVACION: 2-8°C

MATERIAL	CANTIDAD	
	480 determinaciones	1920 determinaciones
Calibrador de MSUD: a3 mg/dl (sangre seca)	1	2
Calibrador de MSUD: a4 mg/dl (sangre seca)	1	2
Calibrador de MSUD: a5 mg/dl (sangre seca)	1	2
Calibrador de MSUD: a6 mg/dl (sangre seca)	1	2
Calibrador de MSUD: a13.8 mg/dl (sangre seca)	1	2
Control I (tarjeta de papel de filtro)	1	2
Control II (tarjeta de papel de filtro)	1	2
Buffer de elución: 50ml	1	5
Enzima: botellado	1	5
Coenzima: botellado	1	5
Reactivo de color: 40ml	1	5
Estimulador de color: 4ml	1	5
Buffer de dilución: 10ml	1	5

Ver instrucciones de uso.

Establecimiento elaborador:
Zentech, Liege Science Park, Avenue du PalAly 10, 4031 Angleur, Belgium.

Establecimiento Importador:
DIAGNOS MED SRL
Conesa 859 - Capital Federal (1428)

Director Técnico:
Dr. S. J. Cembal
"USO PROFESIONAL EXCLUSIVO. AUTORIZADO POR A.N.M.A.T. PM-1540-S2".

MES:

DIRECTOR TECNICO
Dr. S. J. CEMBAL

IMPORTADO Y DISTRIBUIDO POR:
DIAGNOS MED SRL.
CONESA 859 - CAP. FED.

DIAGNOS MED S. R. L.
MARCELO G. ALT
SOCIO GERENTE

8-17-22N-603



zentech



REF E-IV-1920

8 5 6 0
Zentech
A.N.M.A.T. FOLIO 159
Fax -32 (0)4 367 00 63
E-IV-1920



Neonatal MSUD
Screening Assay
REF E-IV-1920

2	CAL CONTROL	20°C
5	DIL BUF	
5	ENZYME	
5	COENZYME	
5	ELU BUF	
5	COLOR REAG	
5	COLOR BOOSTER	

Neonatal MSUD
Screening Assay



Dr. S. J. CEMBAL
DIRECTOR TECNICO
DIAGNOS-MED S.R.L.

Neonatal MSUD
E-IY-480 / E-IY-1920

ENSAYO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACION
DE ENFERMEDAD DE LA ORINA CON OLOR A JARABE DE ARCE
EN RECIÉN NACIDOS.

PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO
USO "IN VITRO"

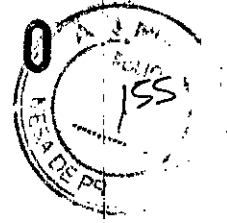
NUMERO DE LOTE:
FECHA DE VENCIMIENTO:
CANTIDAD DE REACTIVOS SUFICIENTE PARA 480/1920
DETERMINACIONES
CONSERVACION: 2-8°C

MATERIAL	CANTIDAD	
	480 determinaci ones	1920 determinaci ones
Calibrador de MSUD: ±3 mg/dl. (sangre seca)	1	2
Calibrador de MSUD: ±4.9 mg/dl. (sangre seca)	1	2
Calibrador de MSUD: ±6.4 mg/dl. (sangre seca)	1	2
Calibrador de MSUD: ±8.5 mg/dl. (sangre seca)	1	2
Calibrador de MSUD: ±13.8 mg/dl. (sangre seca)	1	2
Control I (tarjeta de papel de filtro)	1	2
Control II (tarjeta de papel de filtro)	1	2
Buffer de dilución: 50ml	1	5
Enzima: liofilizado	1	5
Coenzima: liofilizado	1	5
Reactivo de color: 40ml	1	5
Estimulador de color: 4ml	1	5
Buffer de dilución: 10ml	1	5

Ver instrucciones de uso.
Establecimiento elaborador:
Zentech, Liege Science Park, Avenue du PréAilly 10, 4031 Angleur,
Belgium.

Establecimiento importador:
DIAGNOS MED SRL
Conesa 859 - Capital Federal (1426)
Director Técnico:
Dr. S.J. Cembal
"USO PROFESIONAL EXCLUSIVO. AUTORIZADO POR A.N.M.A.T.
PM-1640-52".

8560

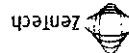


MES:
DIRECTOR TECNICO
Dr. S.J. CEMBAL
IMPORTADO Y DISTRIBUIDO POR
DIAGNOS MED SRL.
CONESA 859 - CAP. FED.

E-IY-2ZF-002



hfb@zentech.be - www.zentech.be
Tel : +32-(0)4-361.42.32 Fax : +32-(0)4-367.00.69
4031 ANGLEUR, Belgium
Liege Science Park, Avenue du PréAilly 10,
Zentech s.a.



REF E-IY-480
Neonatal MSUD Screening Assay

	CAL	DIL	ENZ	COEN	ELU	COLOR	COLOR
1	CONTROL	BUF	ZYME	ZYME	BUF	REAG	BOOSTER
1							
1							
1							
1							
1							
1							

Neonatal MSUD
Screening Assay

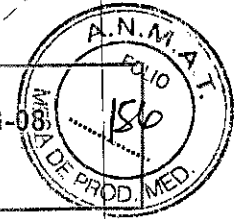


DIAGNOS MED S.R.L.
MARCELO G. ALT
SOCIO GERENTE

Dr. S. J. CEMBAL
DIRECTOR TÉCNICO
DIAGNOS-MED S.R.L.

Zentech s.a. Formulaire d'approbation des étiquettes composants

Nr: FRM-DIG-008
Révision: 1



Date: / /
8 5 6 0

Nom de la trousse:

Nom de la société:

Référence:

...	<p>IVD 12°C 18°C</p> <p>ELU BUF 50 ml</p> <p>LOT EZZ-LE-019</p> <p>2016-10-31</p> <p>ZenTech</p>
...	<p>IVD 12°C 18°C</p> <p>COLOR REAGENT 40 mL</p> <p>LOT EZZ-ID-020</p> <p>2016-10-31</p> <p>ZenTech</p>
...	<p>IVD 12°C 18°C</p> <p>COLOR BOOSTER 4 mL</p> <p>LOT EZZ-IE-020</p> <p>2016-10-31</p> <p>ZenTech</p>
...	<p>IVD 12°C 18°C</p> <p>DIL BUF 10 mL</p> <p>LOT EZZ-QA-018</p> <p>2016-09-30</p> <p>ZenTech</p>
	<p>Neonatal MSUD</p> <p>IVD 12°C 18°C</p> <p>CAL CONTROL</p> <p>LOT E1Y-BZ-022</p> <p>2016-12-31</p> <p>ZenTech</p>

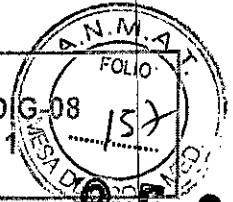
Rédigé par: Date:...../...../..... Nom:	Vérifié par: Date:...../...../..... Nom:	Approuvé par: Date:...../...../..... Nom:
Fonction:	Fonction:	Fonction:

DIAGNOS MED S.R.L.
MARCELO G. ALT
SOCIO GERENTE

Dr. S. J. CEMBAL
DIRECTOR TÉCNICO
DIAGNOS-MED S.R.L.

Zentech s.a. Formulaire d'approbation des étiquettes composants

Nr: FRM-DIG-08
Révision: 1



8560

Date:/..../..

Nom de la trousse:

Nom de la société:

Référence:

...	<p>Neonatal</p> <p>IVD +2°C +18°C </p> <p>COENZYME</p> <p>RCNSI20 mL H2O</p> <p>LOT: EZZ-FA-014</p> <p>2016-11-30</p> <p>ZenTech</p>
...	<p>Neonatal MSUD</p> <p>IVD +2°C +18°C </p> <p>ENZYME</p> <p>RCNSI20 mL H2O</p> <p>LOT: EIY-AA-019</p> <p>2016-08-31</p> <p>ZenTech</p>
...	
...	
...	

Rédigé par: Date:...../...../..... Nom:	Vérifié par: Date:...../...../..... Nom:	Approuvé par: Date:...../...../..... Nom:
Fonction:	Fonction:	Fonction:

DIAGNOS MED S.R.L.
MARCELO G. ALT
SOCIO GERENTE

Dr. S. J. CEMBAL
DIRECTOR TÉCNICO
DIAGNOS-MED S.R.L.

ESPAÑOL

Ensayo de Cribado para la detección de la Enfermedad de la Orina con Olor a Jarabe de Arce en Recién Nacidos

E-IY-480 (480 determinaciones)
E-IY-1920 (1920 determinaciones)

Para uso de diagnóstico in vitro.

1. USO PREVISTO

El ensayo para Neonatal MSUD Screening Assay es un método enzimático colorimétrico para la determinación de la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce en recién nacidos usando muestras de sangre que han sido secadas en papel filtro para colección Whatman S&S 903.

El kit no debe ser usado como prueba de confirmación o para seguimiento de terapia.

2. APLICACIONES CLÍNICAS

La enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD) es un trastorno de la habilidad del organismo para usar tres de los amino ácidos esenciales de las proteínas. Estos tres amino ácidos esenciales: leucina, isoleucina y valina- son a menudo llamados los amino ácidos de cadena ramificada (BCAA). En la MSUD, las enzimas necesarias para degradar la leucina, isoleucina y valina, no están presentes, están inactivadas o solo parcialmente activadas. Debido a la deficiencia enzimática en MSUD, los BCAA y sus subproductos llamados acetoalcoholes aumentan. Es este aumento lo que produce que en un lactante o niño con MSUD aparezcan síntomas.

Se utilizan cuatro clasificaciones generales para identificar tipos de MSUD: clásica, intermedia, intermitente y que responde a la lactina. Estos términos se refieren a la cantidad y tipo de actividad enzimática presente en el niño afectado que pueden variar considerablemente dentro de cada clasificación.

La clásica es el tipo más común de MSUD. En la MSUD clásica, hay poca o ninguna actividad enzimática (generalmente menos de 2% de los niveles normales). En lactantes con MSUD clásica, los síntomas aparecerán dentro de los primeros días de vida. Generalmente tienen poca tolerancia a los BCAA por lo que las proteínas deben ser restringidas en forma drástica en su dieta.

La MSUD intermedia es una variante del tipo clásico de la enfermedad. Aquellos con MSUD intermedia tienen un nivel más alto de actividad enzimática (aproximadamente entre 3 y 8% de los niveles normales). Generalmente ellos pueden tolerar una cantidad mayor de leucina. La MSUD intermitente es una forma más moderada de la enfermedad debido a la mayor actividad enzimática presente (aproximadamente 8 a 15% de los niveles normales). A menudo el niño no presenta síntomas hasta los 12 a 24 meses de edad, generalmente en respuesta a una enfermedad o al aumento de la ingesta de proteínas. Durante los episodios de enfermedad o ayuno, los niveles de BCAA aumentan, el olor característico de jarabe de arce (o azúcar quemada) se vuelve evidente y el niño puede caer en crisis metabólicas.

3. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La Leucina y los BCAA se extraen del papel de celulosa (muestras de sangre seca) con ácido tricloroacético (Tampón de Elución). Después de la extracción, la muestra es mezclada con el reactivo enzimático Leucina deshidrogenasa (E.C.1.4.1.9). Este reactivo enzimático cataliza la desaminación oxidativa dependiente del NAD de la Leucina y los L-BCAA a ácido β-cetoisocaproato. El NADH producido reacciona con un reactivo de color donde una sal de tetrazolio es reducida produciendo un color característico. Este color puede medirse en forma colorimétrica con un fotómetro a 550 nm y es directamente proporcional a la concentración de Leucina y BCAA presentes en la muestra.

4. MATERIAL SUMINISTRADO

- Calibradores & Controles muestras de sangre: 1 (2) juegos de tarjetas de muestras de sangre que contienen sangre humana, papel Whatman S&S 903 que contiene 5 calibradores y 2 controles con concentraciones bajas y altas de Leucina. Retírase a la hoja de control de calidad para informarse sobre las concentraciones exactas de los Calibradores- y los rangos de valores aceptables de los Controles.
- Tampón de elución: 1 (5) X 50 ml de TCA 3% w/v. Lista para su uso.
- Enzima: 1 (5) X 20 ml de Leucina deshidrogenasa liofilizada con tampón y un estabilizador. Reconstituya con 20 ml de agua destilada. Después de reconstituido el reactivo puede ser almacenado a 2-8°C por un mes.
- Coenzima: 1 (5) X 20 ml de NAD liofilizado. Reconstituya con 20 ml de agua destilada. Después de reconstituido el reactivo puede ser almacenado a 2-8°C por un mes.
- Reactivo de color: 1 (5) X 40 ml de sal de tetrazolio. Lista para su uso. Conservante: NaH₂ (< 0.1%).
- Estimulador del color: 1 (5) X 4 ml un receptor de electrones intermedio. Lista para su uso. Conservante NaH₂ (< 0.1%).
- Tampón de dilución: 1 (5) X 10 ml de tampón. Lista para su uso. Conservante NaH₂ (< 0.1%).

Reactivos	Cantidad 480 (1920)	Estado físico
Calibradores & controles	1 (2) juegos	Muestras de sangre seca
Tampón de elución	1 (5) x 50 ml	Lista para su uso
Enzima	1 (5) x 20 ml	Liofilizado
Coenzima	1 (5) x 20 ml	Liofilizado
Reactivo de color	1 (5) x 40 ml	Lista para su uso.
Estimulador del color	1 (5) x 4 ml	Lista para su uso
Tampón de dilución	1 (5) x 10 ml	Lista para su uso

5. ALMACENAJE Y ESTABILIDAD DEL KIT

- Almacene el kit y reactivos a 2-8°C.
- Mantener muestras de sangre seca entre 2 y 8°C en la bolsa original con un desecant. Se debe tener cuidado para sellar herméticamente. Le recomendamos que mantenga preferentemente las manchas de sangre a -20°C durante períodos más largos.
- Los reactivos que no han sido abiertos mantendrán la reactividad hasta la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta. No use los reactivos más allá de esta fecha.

6. MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Microplacas con pocillos de fondo redondo (= PLACAS DE ELUCIÓN)
- Microplacas con pocillos de fondo plano (= PLACAS DE ENSAYO)
- Agua destilada o desionizada
- Micropipetas automáticas regulables con puntas desechables
- Espectrofotómetro para microplacas equipado con un filtro de 550 nm en modo de lectura endpoint
- Perforador de muestras de sangre de 3 mm
- Agitador de microplacas orbital (900 rpm)
- Tarjetas para recolección de sangre (recomendadas Whatman S&S 903).

7. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para obtener resultados reproducibles, se deben observar las siguientes reglas:

- No mezcle reactivos de lotes diferentes.
- No use reactivos después de la fecha de caducidad.
- Use material de vidrio escrupulosamente limpio.
- Use agua destilada almacenada en recipientes limpios.
- Evite cualquier contaminación entre las muestras; con este propósito, se deben usar puntas desechables para cada muestra y reactivo.

Para evitar contaminación personal o del medio ambiente, se deben tomar las siguientes precauciones:

- Use guantes desechables al manipular material potencialmente infeccioso mientras realiza el ensayo.
- No pipeteo los reactivos con la boca.
- No fume, coma, beba ni se aplique cosméticos durante el ensayo.
- Todo el material de origen humano usado en la preparación de este kit, resultó negativo en la prueba para detectar HBsAg, anti-VIH y anti-VHC. Debido a que no existe actualmente una prueba que garantice completamente la ausencia de estos virus, todas las muestras y reactivos utilizados para este ensayo deben ser considerados como potencialmente infecciosos. Por lo tanto los desechos del ensayo deben ser descontaminados y eliminados de acuerdo con los procedimientos de seguridad establecidos.
- El material desechable inflamable debe ser incinerado; el material desechable no inflamable debe ser esterilizado en autoclave al menos por 1 hora a 121°C. A los desechos líquidos se les debe agregar hipoclorito de sodio a una concentración final de 3%. Deje que el hipoclorito actúe por lo menos 30 minutos. Los desechos líquidos que contienen ácido deben ser neutralizados con cantidades adecuadas de una base, antes de tratar con hipoclorito de sodio.
- Evite salpicaduras y la formación de aerosol; en caso de un derrame, lave cuidadosamente con una solución al 3% de hipoclorito de sodio y elimine este líquido para limpiar como si fuera un desecho potencialmente infeccioso.
- Algunos reactivos contienen ácidos de sodio como conservante; para prevenir la acumulación de ácidos metálicos explosivos en cañerías metálicas de cobre y plomo, los reactivos deben ser eliminados haciendo correr cantidades copiosas de agua por el desagüe.
- Precaución: El Tampón de Elución que contiene ácido tricloroacético (TCA), tiene un alto grado de acidez y es corrosivo. Se deben usar guantes protectores y gafas de seguridad al usar este reactivo.

8. TOMA DE MUESTRA

Idealmente la sangre debe ser tomada entre el tercer y quinto día de vida (48 a 120 horas después del nacimiento). Las muestras de sangre se toman y se dejan secar en un papel filtro reservado para programas de cribaje neonatal (Whatman S&S 903). Se pincha el talón del niño con una lanceta estéril. La sangre obtenida se absorbe con el papel filtro en el centro del círculo impreso en el Papel para Toma de Muestra. Ambos lados del papel deben estar completamente saturados de sangre. Luego la muestra se seca al aire por 4 horas a temperatura ambiente y se guardan en sobres de papel sellado o en recipientes que protejan de la humedad, luz, calor y contacto con otros materiales. Los discos de muestras deben ser perforados desde áreas similares en las muestras de sangre de cada individuo. No perforo discos de muestra en áreas que incluyan marcas impresas o que estén cerca de los bordes de la muestra de sangre. Las muestras de sangre seca pueden ser almacenadas a 2-8°C por un periodo de al menos 4 meses.

9. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

SOLUCIÓN DE ENZIMA-COENZIMA

A. Reconstitución:

Primero, reconstituya un vial de Enzima y un vial de Coenzima con 20 ml de agua destilada o desionizada para cada uno. Mezcle suavemente para ayudar a la reconstitución. Después de reconstituido el reactivo puede ser almacenado a 2-8°C por un mes.

B. Preparación:

→ Mezcle 2 partes de Enzima con 2 partes de Coenzima y 1 parte de tampón de dilución.

La siguiente tabla proporciona los volúmenes necesarios para cada uno de los tres componentes para procesar una cantidad específica de pruebas (volumen en ml).

# pruebas	Enzima (ml)	Coenzima (ml)	Tampón de Dilución (ml)	Solución Enzima-coenzima Volumen total (ml)
50	2	2	1	5
100	4	4	2	10
200	8	8	4	20
400	16	16	8	40
1000	40	40	20	100

Recomendamos especialmente que agregue el Tampón de Dilución inmediatamente antes de utilizar la mezcla. No guarde o use la Enzima, Coenzima o la solución de trabajo combinada de Enzima-Coenzima por más tiempo que el especificado.

MEZCLA DEL REACTIVO DE COLOR

→ Prepare la mezcla agregando 1 parte de Estimulador del Color a 10 partes de reactivo de Color.

# pruebas	Estimulador del Color (ml)	Reactivo de Color (ml)	Mezcla de reactivo de color Volumen total (ml)
50	0,4	4	4,4
100	0,8	8	8,8
200	1,6	16	17,6
400	3,2	32	34,2
1000	8,0	80	88,0

Después de reconstituido, proteja la mezcla de Reactivo de Color de la luz directa (p. ej. Envuelva en papel de aluminio); es estable por 4 horas a 2-8°C.

No debe permanecer sin refrigeración por más tiempo del necesario. Saque el reactivo del refrigerador inmediatamente antes de usarlo. Saque solamente la cantidad que usará durante el día. Devuelva el resto del reactivo de color al refrigerador.

10. PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

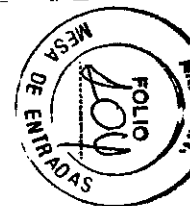
A. ELUCIÓN:

- Equilibre todos los reactivos (excepto el reactivo de color) a temperatura ambiente antes de pipetear.
- Perfore 2 muestras de blanco (CO), 2 muestras de sangre de Calibradores (C1-C5), Controles (L1, L2) y muestras (cada una de 3 mm de diámetro) y coloque 2 discos dentro de los pocillos respectivos de la microplaca con fondo redondo.
- Pipeteo 100 µl de Tampón de Elución en cada pocillo. Asegúrese que cada disco este totalmente sumergido en el líquido.
- Inclúe la microplaca en un agitador de microplacas orbital por 30 minutos a temperatura ambiente (20-26°C).
- Durante la elución reconstituya y prepare los reactivos (paso 9), y una microplaca de fondo plano.

DR. S. J. CEMBAL
DIRECTOR TÉCNICO
DIAGNÓSTICO MED. S.R.L.

MARCELO ALI
SOCIO GERENTE
DIAGNÓSTICO MED. S.R.L.

8560



B. TRANSFERENCIA DE LAS MUESTRAS Y ENSAYO:

- Después de la incubación saque la placa del agitador y transfiera 40 µl del eluido de cada pocillo al pocillo correspondiente en la microplaca de fondo plano
- Pipeteo 100 µl de la solución Enzima-Coenzima preparada en el paso 9 en cada pocillo. Mezcle bien evitando la formación de espuma
- Incube 30 minutos a temperatura ambiente (20-26°C).
- Agregue 80 µl de mezcla de Reactivo de Color preparada en el paso 9 en cada pocillo. Mezcle bien evitando la formación de espuma.
- Después de 10 minutos de incubación a temperatura ambiente manteniendo la placa protegida de la luz, haga una medición única de la microplaca en modo endpoint a 550-570 nm (óptima: 550 nm). No es necesario esperar más de 10 minutos.

Secuencia de la Reacción:

Leucina + NAD⁺ → α-cetósocaproilo + NADH⁺ (catalizada por la Leucina deshidrogenasa)

NADH⁺ + NET (ox amarillo) → NAD⁺ + formazan (violeta) (catalizada por una solución de un receptor de electrones intermediario; medido a 550 nm)

Por favor tome nota de lo siguiente:

- Este ensayo debe ser realizado a temperatura ambiente (20-26°C). A temperaturas más altas (sobre 26°C) es posible que se observe un blanco anormalmente alto.
- También se podrá producir un blanco alto si la etapa del reactivo de color se prolonga por más de 20 minutos.

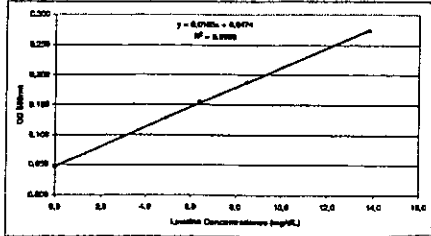
11. CÁLCULO DE RESULTADOS

Dibuje una curva de calibración, graficando la concentración de los calibradores (eje-x) contra la DO absorbencia obtenida para cada calibrador (eje-y). Las DO obtenidas de los estándares se grafican contra las concentraciones. La curva estándar se estima mediante una función de regresión lineal. Usando programas de ordenador, la mejor forma de describir la curva es como una regresión lineal de 2 puntos con ejes lineales. Las concentraciones correspondientes de Leucina en mg/dL se obtienen interpolando las absorbancias de cada muestra en la curva de calibración.

Unidad de Conversión : 1mg/dL = 78,3µmol/L

Descripción	Concentración		D.O. Promedio
	(mg/dL)	(µmol/L)	
Blanco (CO)	0,0	0	0,046
Calibrador 1	3,0	229	0,096
Calibrador 2	4,9	374	0,128
Calibrador 3	6,4	498	0,155
Calibrador 4	8,5	649	0,188
Calibrador 5	13,8	1053	0,274

El siguiente gráfico muestra las respuestas (en DO) de los calibradores con una concentración conocida de Leucina (expresada en mg/dl en el eje-x).



Neonatal MSUD Screening Assay / E-IY-MZ-005 / 06-12

12. RANGO DE VALORES NORMALES ESPERADOS

Usando el promedio de una población de muestras de rutina de sangre de recién nacidos más 2 DS se obtuvo un punto de corte de 4,0 mg/dL.

El valor normal y corte del ensayo de cribaje para MSUD es sólo una guía. El rango y corte específico debe ser establecido por cada laboratorio con su población demográfica local.

13. CONTROL DE CALIDAD

Los controles internos (L1-L2) incluidos en el kit deben ser controlados rutinariamente para comprobar que las concentraciones medidas estén dentro de los valores indicados. Estos controles proveen de información muy valiosa en relación con la validez de la prueba de acuerdo con el fabricante. Si la precisión del ensayo se relaciona con este estándar y la repetición excluye errores de técnica, revise el pipeteo y los aparatos de temporización, calibración de instrumentos, fechas de caducidad en las etiquetas de los reactivos y soluciones de trabajo preparadas, condiciones de almacenaje, aparatos para control de temperatura.

14. RENDIMIENTO DEL ANÁLISIS

a. Sensibilidad

La sensibilidad se define como la concentración mínima de Leucina que puede ser distinguida estadísticamente de cero mg/dL. Esta dosis es de 1,4 mg/dL.

b. Precisión

Intra-ensayo

	Leu (mg/dL)	S.D.	CV (%)	n
Nivel 1	8.1	0.4	4.9	20
Nivel 2	10.4	0.7	7.1	20
Nivel 3	13.2	0.7	5.3	20

Inter-ensayo

	Leu (mg/dL)	S.D.	CV (%)	n
Nivel 1	4.7	0.5	10.8	9
Nivel 2	9	0.4	4.5	9
Nivel 3	11.5	1.6	14.2	9

c. Reacción cruzada

No se produjo reacción cruzada con ninguna de las sustancias típicas probadas.

15. RECLAMOS

Se aceptan reclamos por escrito (de preferencia en el formulario de reclamos del fabricante). Se pueden incluir todos los detalles del kit así como también los resultados. Puede solicitar una copia del formulario de reclamos en Zentech.

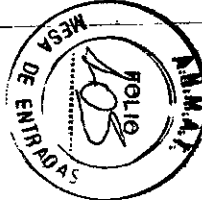
BIBLIOGRAPHY - BIBLIOGRAFIA

- Scriver, C.R., Kaufman, S., and Woo S.L.C., in, The Metabolic Basis of Inherited Diseases I, C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, and D. Valle, Eds., Seventh Edition, McGraw Hill 1015, 1995
- Jervis, G.A. 1953 Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82:514.
- Weisbren, S.E., Mahon, B.E., Schnell, R.R., and H.L. Levy. 1987 Pediatrics 79:351.
- Rylands, G. 1989 Postgrad. Med. J. 65 (Suppl. 2) S7.
- Smith, L., Beasley, M.G., and A.E. Ades. 1990 Arch. Dis. Childhood 65:472
- Morris, H.C., Miller, J., Campbell, R.S.C., Hammond, P.M., Berry, D.J., and C.P. Price. 1988 J. Antimicrob. 22:93.
- Wendel, U., Koppelkamm, M., Hummel, W., Sander, J., and U. Langerbeck. 1980 Clin. Chem. Acta. 102:165.
- Young, D.S., Pestaner, L.C., and V. Gibberman. 1975 Clin. Chem. 21:5.
- Westgard, J.O., et al. 1981 Clin. Chem. 27:493-501.
- CLSI (2007) Approved Standard LA4-A5 Blood Collection on Filter paper for Neonatal Screening Programs. Fifth edition. CLSI, Wayne, PA.
- National Committee for clinical Laboratory Standards (1984) Publication C24-P Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions. NCCLS, PA.

Dr. S. CEMBAL
DIRECTOR TÉCNICO
DIAGNOS-MED S.R.L.

MARCELO ALT
SOCIO GERENTE
DIAGNOS-MED S.R.L.

85



Neonatal MSUD Screening Assay / E-IY-MZ-005 / 06-12