



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

"2015 - Año del Bicentenario del congreso de los Pueblos Libres"

DISPOSICIÓN Nº **8809**

BUENOS AIRES **26 OCT 2015**

VISTO, el expediente nº 1-47-3110-1583/15-1 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma BIODIAGNOSTICO S.A. solicita autorización de cambio de nombre y origen de elaboración para el producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado MICROPLATE NEONATAL PHENYLALANINE, autorizado por Certificado nº 4186.

Que a fs. 117 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnostico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley 16463, Resolución Ministerial Nº 145/98 y Disposición ANMAT Nº 2674/99.

Que se actúa en virtud a las atribuciones conferidas por el Decreto Nº 1490/92, por el Decreto Nº 1886/14 y el Decreto Nº 1368/15.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE  
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

DISPONE:



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

"2015 - Año del Bicentenario del congreso de los Pueblos Libres"

DISPOSICIÓN N° **8809**

ARTICULO 1º.- Autorízase a la firma BIODIAGNOSTICO S.A., el cambio de nombre y origen de elaboración para el Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado QUANTASE™ NEONATAL PHENYLALANINE SCREENING, que en lo sucesivo será elaborado en BIO-RAD LABORATORIES GmbH. Heidemannstrasse 164. 80939 München. (ALEMANIA).

ARTICULO 2º.- Practíquese la atestación correspondiente en el Certificado n° 4186 cuando el mismo se presente acompañado de la fotocopia autenticada de la presente Disposición.

ARTICULO 3º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 45 a 116, desglosándose las fojas 45 a 68 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 4º.- Regístrese; gírese a 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. Cumplido, archívese.-

Expediente n°: 1-47-3110-1583/15-1.

DISPOSICIÓN N° **8809**

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

**BIO-RAD**

26 OCT 2015

8809



REF 532-5052

**Quantase™ Neonatal**

REF 532-5053


**Phenylalanine Screening**


## Instrucciones de uso

 500/2000

IVD

CE 0843

Septiembre 2014  
600-1009P,  000001  
325:409

 Germany, Bio-Rad Laboratories GmbH, Heidemannstraße 164  
80939 München

  
BIODIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TÉCNICA  
BIOQUÍMICA  
APODERADA

8809

BIO-RAD

## Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening



### CONTENIDO

Uso previsto .....	75
Resumen y explicación de la prueba .....	75
Principio del procedimiento.....	76
Componentes del kit .....	77
Artículos adicionales necesarios.....	78
Precauciones/advertencias.....	79
Recolección y manejo de muestras .....	80
Preparación y almacenamiento de reactivo .....	80
Kit para 500 pruebas .....	80
Kit para 2000 pruebas.....	81
Procedimiento .....	81
Pasos de la prueba.....	81
Elución.....	81
Transferencia de la muestra y prueba .....	82
Generación de Color .....	82
Certificación/Observación del Material de Referencia .....	83
Requisitos QC .....	83
Directrices para la interpretación de los resultados.....	83
Control de calidad.....	83
Cálculo de los resultados.....	84
Limitaciones del procedimiento .....	85
Valor de variación estimado.....	85
Características de rendimiento .....	86
Kit para 500 pruebas, REF 532-5052 .....	86
Especificidad .....	86
Precisión .....	86
Linealidad y Sensibilidad Analítica .....	86
Kit para 2000 pruebas, REF 532-5053 .....	87
Especificidad .....	87
Precisión .....	87
Linealidad y Sensibilidad Analítica .....	87
Sustancias interferentes .....	87
Información sobre la seguridad del producto .....	88
Contactos para información técnica .....	88



## USO PREVISTO

La prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening es un método enzimático cuantitativo para la determinación de la L-fenilalanina en muestras de manchas secas de sangre (MSS) de recién nacidos humanos recogidas en papel de recogida de muestras Whatman 903.

El propósito de esta prueba es proporcionar un método de clasificación para medir la concentración de L-fenilalanina en muestras de manchas de sangre de recién nacidos. Los resultados elevados no son, de por sí, diagnósticos de fenilcetonuria, pero indican la urgente necesidad de un estudio más a fondo del recién nacido de quién se obtuvo la muestra presuntamente positiva.

Este equipo no debe utilizarse para monitorear las concentraciones circulantes de L-fenilalanina en pacientes fenilcetonúricos con fines de evaluación del control dietético ni para detectar la fenilcetonuria prenatal o materna.

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La fenilcetonuria (FCU) es una de entre una diversidad de hiperfenilalanemias de diferente etiología y gravedad reveladas por la clasificación masiva de concentraciones de L-fenilalanina en la sangre de los neonatos. [1] La FCU clásica se caracteriza por la sensible concentración [1] elevada de L-fenilalanina en sangre como consecuencia de una total carencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa hepática (EC 1.14.16.1). [2] De no ser tratadas, las concentraciones circulantes incrementadas de L-fenilalanina dan por resultado una gama de aberraciones físicas, fisiológicas y psicológicas, siendo la principal de ellas el retraso mental. [1] Una vez diagnosticada la FCU, se debe iniciar inmediatamente el tratamiento por restricción dietética de la L-fenilalanina, ya que la demora en este tratamiento se ha correlacionado con el aumento de la gravedad del retraso mental. [3-5]

La incidencia promedio general de FCU es de 1:10000 (variación de 1:2600 a 1:25000) dependiendo de los antecedentes étnicos de la población. [1] Los datos limitados de que se dispone [6] sugieren que la incidencia de hiperfenilalanemia FCU y no FCU en los no caucásicos es 5 veces menor que en los caucásicos. En la práctica de clasificación, en general, una muestra de mancha seca de sangre con una concentración de L-fenilalanina superior a 4,0 mg/dl se clasifica como "presuntamente positiva". Esta definición de presuntamente positiva varía de un estado a otro de la Unión Norteamericana (CORN, Informe de Clasificación del Recién Nacido de 1990. Informe Final: Febrero de 1992: p46). La FCU clásica se caracteriza como una concentración circulante de L-fenilalanina superior a 20 mg/dl con una concentración de tirosina inferior a 2 mg/dl [7] suponiendo una carga dietética adecuada, es decir alimentación con leche materna o fórmula durante las 48 horas anteriores al muestreo. La hiperfenilalanemia no FCU, clasificada como concentraciones circulantes de L-fenilalanina superiores a 2 mg/dl pero inferiores a 8 mg/dl, [7] o superiores a 10 mg/dl pero inferiores a 20 mg/dl [6] requiere pruebas repetidas y de seguimiento para asegurarse de que la concentración elevada de L-fenilalanina es "benigna", debido a la inmadurez del sistema depuración, o "maligna", por no responder a la restricción dietética.

325:409

BIODIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MEROAVIDE  
DIRECTORA TECNICA  
BIOQUIMICA

Instrucciones de uso

75

3391

BIO-RAD



# Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening

Actualmente, se utilizan dos métodos principales para la estimación de las concentraciones de L-fenilalanina en manchas de sangre: (a) la prueba de inhibición bacteriana de Guthrie (BIA) [8, 9], método semicuantitativo basado en el alivio de la inhibición por la L-fenilalanina, de B.subtilis AATCC 6051 o 6633 de crecimiento inhibido; y (b) modificaciones [10, 11] del método de fluorescencia de McCaman y Robins. [12] Este último es un método cuantitativo basado en la reacción, en condiciones específicas, de la ninhidrina por la L-fenilalanina, para obtener un producto de reacción fluorescente. Ambos métodos han sido utilizados con éxito para determinar las concentraciones de L-fenilalanina en sangre con destino a programas de clasificación masiva de la FCU en recién nacidos y de seguimiento de fenilcetonuricos ya identificados a fin de evaluar el cumplimiento del régimen dietético. Sin embargo, ambos métodos adolecen de interferencias, principalmente por antibióticos, [13-16] que producen resultados negativos falsos en la prueba de Guthrie y resultados positivos falsos en la prueba fluorimétrica.

La prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening, es un método de punto final, colorimétrico y rápido para la determinación cuantitativa específica de L-fenilalanina en muestras de manchas secas de sangre humana en programas de clasificación de FCU en recién nacidos. Debido a su formato, la prueba es de fácil automatización, por lo que se presta a la clasificación masiva. Las ventajas sobre la prueba de Guthrie son la total cuantificación, velocidad y falta de interferencias por antibióticos. La ventaja que tiene sobre el método fluorimétrico es la falta de interferencias por componentes endógenos de la muestra fluorescente, lo que reduce el número de resultados positivos falsos.

## PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening utiliza la enzima fenilalanina deshidrogenasa (EC 1.4.1.20), la cual cataliza la desaminación oxidativa, dependiente del NAD<sup>+</sup>, de la L-fenilalanina a fenilpiruvato y amoníaco. [17-19] El NADH producido se determina colorimétricamente mediante un sistema de detección de aceptor de electrones tetrazólico/intermedio. [20]

  
BIODIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TECNICA  
BIOQUIMICA  
APODERADA

8809

**BIO-RAD****Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening****COMPONENTES DEL KIT**

El kit Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening (REF 532-5052 y 532-5053) contiene reactivos suficientes para 500 y 2000 pruebas, respectivamente.

<b>Kit para 500 pruebas</b> REF 532-5052		<b>Componente</b>	<b>Descripción</b>
REF	Cantidad		
532-5067	4 x 3,5 ml	Reactivo Enzimático	Deshidrogenasa de L-fenilalanina bacteriana liofilizada, con tampón y estabilizador.
532-5068	1 x 16 ml	Diluyente Reactivo Enzimático	Solución acuosa, tamponada y estabilizada, y ázida de sodio al 0,1 %.
532-5069	4 x 11 ml	Reactivo Coenzimático	NAD <sup>+</sup> liofilizado y tamponado.
532-5070	1 x 55 ml	Reactivo Colorante	Solución tamponada de sal tetrazólica, con aceptor de electrones intermedio y con detergente.
532-6130	Estándares: 4 tarjetas Controles: 2 tarjetas	Estándares y Controles de Mancha de Sangre	Manchas sobre papel Whatman 903. 1 tarjeta/nivel. Estándares: Sangre humana con aprox. 2, 5, 10 y 20 mg/dl de L-fenilalanina. Controles: Sangre humana con aprox. 4 y 14 mg/dl de L-fenilalanina.

<b>Kit para 2000 pruebas</b> REF 532-5053		<b>Componente</b>	<b>Descripción</b>
REF	Cantidad		
532-5041	4 x 14 ml	Reactivo Enzimático	Deshidrogenasa de L-fenilalanina bacteriana liofilizada, con tampón y estabilizador.
532-5042	1 x 62 ml	Diluyente Reactivo Enzimático	Solución acuosa, tamponada y estabilizada, y ázida de sodio al 0,1 %.
532-5043	4 x 44 ml	Reactivo Coenzimático	NAD <sup>+</sup> liofilizado y tamponado.
532-5044	1 x 220 ml	Reactivo Colorante	Solución tamponada de sal tetrazólica, con aceptor de electrones intermedio y con detergente.
532-6130	Estándares: 4 tarjetas Controles: 2 tarjetas	Estándares y Controles de Mancha de Sangre	Manchas sobre papel Whatman 903. 1 tarjeta/nivel. Estándares: Sangre humana con aprox. 2, 5, 10 y 20 mg/dl de L-fenilalanina. Controles: Sangre humana con aprox. 4 y 14 mg/dl de L-fenilalanina.



## ARTÍCULOS ADICIONALES NECESARIOS

- **REF 532-5040 Tampón de Elución**, Quantase™ Neonatal Accessory Kit
- **Placas de Filtro**, recomendado:  
**REF 532-5038 Bio-Rad Placas de Filtro**, Quantase™ Neonatal Accessory Kit
- **Placas de Prueba**, recomendado:  
**REF 532-5039 Bio-Rad Placas de Prueba**, Quantase™ Neonatal Accessory Kit
- **Distribuidor de vacío para Placas de Filtro**, recomendado:  
**REF 532-5025 Bio-Rad Vacuum manifold**
- **Bomba de Vacío**
- **Pipetas de repetición o de canales múltiples**
- **Agitador de Placa**
- **Lector de placa**, equipado con filtros de 570 y 690 nm para una lectura de longitud de onda dual
- **Sacabocados 1/8" (3,2 mm)**, recomendado:  
**REF 532-5021 Bio-Rad DBS Punch**
- **Selladores de Placas**





51

## PRECAUCIONES/ADVERTENCIAS

- Lea detenidamente todas las instrucciones de uso antes de realizar la primera prueba. Para que este producto funcione correctamente es fundamental que siga el protocolo que se especifica en las mismas.
- El personal que vaya a realizar la prueba debe equiparse con los dispositivos estándar de seguridad de laboratorio (gafas de seguridad, bata de laboratorio, guantes, etc.).
- El Diluyente Reactivo Enzimático contiene ázida de sodio al < 0,1 % (c/v) como conservante. La ázida de sodio, al entrar en contacto con tubería de plomo o de cobre, puede reaccionar y formar ázidas metálicas altamente explosivas. Cuando se eliminen reactivos que contengan ázida de sodio, enjuáguese con bastante agua para evitar la acumulación de ázida.
- Deseche los residuos del producto y el envase de acuerdo con todas las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales aplicables.
- La Hoja de Datos de Seguridad está disponible en bio-rad.com y previa petición.
- El Tampón de Elución contiene ácido tricloroacético (ATC) al 33 % (cuando no está diluida). Consulte el prospecto del paquete o paquetes de accesorios para obtener detalles sobre la dilución del Tampón de Elución antes de usarla en esta prueba. El ATC es un ácido corrosivo. Se deben tomar las precauciones de seguridad correspondientes cuando se use este reactivo.
- Material de origen humano. El material empleado en la preparación de este producto se ha sido estudiada mediante métodos aprobados por la FDA y se ha observado que no es reactiva para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), ni anticuerpos frente a VIH et VHC, ARN del VIH-1, ADN del VHB, ARN del VHC ni sífilis. Ningún método de análisis puede garantizar totalmente que los productos que contengan material de origen humano no contengan éstos u otros agentes infecciosos. Todo material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso para todos los agentes infecciosos; por tanto, manipule los estándares y los controles con las mismas precauciones que las muestras de pacientes.
- Para uso exclusivo de personal de laboratorio formado y cualificado.
- No use los componentes del equipo después de las fechas de vencimiento que aparecen en las etiquetas.
- No mezcle los componentes de equipos con números de lote distintos.
- No almacene el Reactivo Enzimático, el Reactivo Coenzimático o el Reactivo Enzimático de Trabajo reconstituidos por más tiempo que los períodos recomendados.
- Mantenga todos los reactivos a 2-8 °C en recipientes cerrados cuando no estén en uso. Asegúrese de que todos los reactivos estén equilibrados a 18-25 °C antes de su uso. Mantenga los Estándares y Controles de Mancha de Sangre a 2-8 °C en la bolsa original con disecante cuando no estén en uso y asegúrese de que estén equilibrados a la temperatura ambiente de 18-25 °C antes de su uso.
- No use ninguna solución que se haya puesto turbia o descolorida.
- No use selladores de placas durante los pasos de incubación. Utilícelos únicamente durante los pasos de transferencia de eluato.



## RECOLECCIÓN Y MANEJO DE MUESTRAS

La sangre debe recogerse en papel de recogida de muestras Whatman 903.

Idealmente, la sangre debe ser recolectada entre el tercer y quinto día de vida (48 a 120 horas después del nacimiento). Los resultados de las muestras recolectadas antes del tercer día de vida (0-48 horas después de nacer) deben ser tratados con precaución debido a la mayor probabilidad de obtener resultados erróneos (positivos falsos y negativos falsos) con dichas muestras. Se debe obtener una muestra repetida válida de las muestras tomadas en este período. El recién nacido debe estar bajo una dieta de contenido suficiente de proteínas antes del muestreo. El estado alimentario del recién nacido debe ser anotado en la ficha de recolección de sangre.

La sangre del cordón umbilical NO debe usarse como muestra.

Para información más detallada sobre la recolección de muestras, consulte el estándar aprobado NBS01-A6 de la CLSI para "Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs" (recolección de sangre en papel filtro con destino a programas de clasificación de neonatos) 6th edición (2013) CLSI, Wayne, PA. [27]

## PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVO

### Kit para 500 pruebas

1. Reconstituya **1 vial de Reactivo Enzimático con 3,5 ml de Diluyente Reactivo Enzimático.**
2. Reconstituya **1 vial de Reactivo Coenzimático con 11 ml de agua destilada/desionizada.**
3. Agite suavemente el vial para reconstituir los reactivos. **NO** agite vigorosamente el Reactivo Enzimático, ya que ello puede causar la pérdida de actividad enzimática y dar un rendimiento deficiente. Deje que ambos reactivos reconstituidos reposen durante 5 minutos antes de usarlos.
4. Las soluciones de Reactivo Enzimático y de Reactivo Coenzimático reconstituidos se mantienen estables durante 30 días después de su reconstitución si se almacenan a 2-8 °C en sus recipientes originales.
5. **Preparación del Reactivo Enzimático de Trabajo:** Mezcle los Reactivos Enzimático y Coenzimático reconstituidos en proporción de 1:3 (1 parte de Reactivo Enzimático por cada 3 partes de Reactivo Coenzimático) a fin de lograr un Reactivo Enzimático de Trabajo que se mantenga estable durante un máximo de 8 horas a 2-8 °C.

**Kit para 2000 pruebas**

1. Reconstituya **1 vial de Reactivo Enzimático con 14 ml de Diluyente Reactivo Enzimático.**
2. Reconstituya **1 vial de Reactivo Coenzimático con 44 ml de agua destilada/desionizada.**
3. Agite suavemente el vial para reconstituir los reactivos. **NO** agite vigorosamente el Reactivo Enzimático, ya que ello puede causar la pérdida de actividad enzimática y dar un rendimiento deficiente. Deje que ambos reactivos reconstituídos reposen durante 5 minutos antes de usarlos.
4. Las soluciones de Reactivo Enzimático y de Reactivo Coenzimático reconstituídos se mantienen estables durante 30 días después de su reconstitución si se almacenan a 2–8 °C en sus recipientes originales.
5. **Preparación del Reactivo Enzimático de Trabajo:** Mezcle los Reactivos Enzimático y Coenzimático reconstituídos en proporción de 1:3 (1 parte de Reactivo Enzimático por cada 3 partes de Reactivo Coenzimático) a fin de lograr un Reactivo Enzimático de Trabajo que se mantenga estable durante un máximo de 8 horas a 2–8 °C.

**PROCEDIMIENTO****Pasos de la prueba****Elución**

Nota: El Tampón de Elución debe diluirse antes de usarse. Por favor, consulte el prospecto del paquete de Accesorios para obtener detalles sobre la dilución del Tampón de Elución.

1. Con el sacabocados, corte 1 disco de 1/8" (3,2 mm) de diámetro a partir de los Estándares de Mancha de Sangre S1-S4 y de los Controles A y B en los respectivos pocillos de una Placa de Filtro. Para el Estándar S0, corte un disco de papel blanco simple en una zona sin mancha de la tarjeta del Estándar S1. Corte los discos que llevan las muestras del paciente, transféralos a los pocillos individuales restantes y anote su posición en la placa. **NO** esterilice en autoclave los Estándares, Controles o muestras de los pacientes antes de cortar los discos.
2. Con una pipeta, transfiera 50 µl de Tampón de Elución diluida a cada pocillo y agite la placa suavemente. Examine visualmente la placa para asegurarse de que cada disco de papel esté sumergido totalmente en el Tampón de Elución.
3. Incube la Placa de Filtro durante 30 minutos a la temperatura ambiente (18–25 °C) en un agitador de placas, con agitación moderada. Inspeccione los pocillos periódicamente para asegurarse de que estén totalmente sumergidos en el Tampón de Elución.



**Transferencia de la muestra y prueba**

4. Cargue la sección inferior del Distribuidor de Vacío con una placa limpia de microtitulación, de fondo plano (la "Placa de Prueba"). Conecte el distribuidor a una bomba de vacío y arme la junta y el portaplacas.
5. Concluida la etapa de elución de 30 minutos, coloque la Placa de Filtro que contiene las muestras eluidas en el distribuidor de vacío. Cubra los pocillos que no haya utilizado con un sellador de placa.
6. Encienda la bomba de vacío. Presione los bordes de la placa con una mano, y abra el interruptor de vacío del distribuidor durante 10 segundos. Transcurridos 10 segundos, compruebe si todos los pocillos están secos, y de no ser así, aplique el vacío durante 10 segundos más.
7. Cuando el eluato se haya transferido a la Placa de Prueba, apague la bomba de vacío y extraiga la Placa de Filtro del distribuidor de vacío. A continuación, retire el portaplacas y la junta, y retire de la sección inferior del distribuidor de vacío la Placa de Prueba que contiene el eluato.
8. Transfiera con pipeta 100 µl de Reactivo Enzimático de Trabajo (preparado en la sección de Preparación y Almacenamiento de Reactivo) a cada pocillo de la Placa de Prueba. Incube la Placa de Prueba a la temperatura ambiente (18–25 °C) durante 30 minutos en un agitador de placas, con agitación moderada.

**Generación de Color**

9. Después de la incubación de 30 minutos de la Placa de Prueba, agregue 100 µl de Reactivo Colorante a cada pocillo y asegúrese de que NO se produzcan BURBUJAS en los pocillos durante la adición. Incube la placa a la temperatura ambiente (18–25 °C) en un agitador de placas, con agitación moderada, durante 2 minutos.
10. Lea la absorbancia de la placa a 570/690 nm (longitud de onda dual) de 2 a 5 minutos después de la adición de Reactivo Colorante.



## Certificación/Observación del Material de Referencia

El calibrado de los Estándares y Controles de Mancha que aporta el equipo de prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening se puede encontrar en los "ISNS Reference Preparation for Neonatal Screening (ISNS-RPNS)".

## Requisitos QC

Los Estándares y Controles de Mancha de Sangre deben probarse en la primera placa de una serie analítica de placas múltiples. Los Controles de Mancha de Sangre deben probarse en placas posteriores.

## DIRECTRICES PARA LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### Control de calidad

El resultado de la prueba es aceptable si la concentración media de cada control está dentro de los límites indicados en el paquete de los controles. La prueba es inaceptable si los valores medidos para CUALQUIERA de los controles del equipo caen fuera de las especificaciones. Si la prueba es inaceptable, NO debe informarse de los resultados de la muestra del paciente. Los usuarios tal vez quieran incluir más controles internos del laboratorio y/o materiales de referencia si se tienen disponibles. Las condiciones de estabilidad y almacenamiento de estos controles adicionales y los criterios para la aceptación/rechazo de pruebas deben ser determinados por cada laboratorio. Se recomienda encarecidamente la participación en los esquemas nacionales externos de aseguramiento de calidad (AC). En la Sección de Referencias se dan referencias sobre literatura [28-30] relacionada con el aseguramiento y el control de calidad. Como parte de una buena práctica de AC, se recomienda estudiar periódicamente la conveniencia de repetir las pruebas cuando los resultados de un paciente sean inferiores al límite de detección de la prueba por si acaso éstos representen una mala muestra o errores de procedimiento.



## Cálculo de los resultados

La prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening es lineal hasta al menos 20 mg/dl de L-fenilalanina. Muchos lectores modernos de microtitulación de placas tienen un programa informático incorporado que calcula los resultados automáticamente por el método de regresión lineal, una vez conocidas las concentraciones estándar. Consulte el instrucciones de uso de sus instrumentos.

Para cálculos manuales:

(a) Se construye una curva estándar con un gráfico de la absorbancia a 570/690 nm de los estándares S0-S4 en el eje vertical ("y") frente a la concentración de L-fenilalanina de los estándares en el eje horizontal ("x"). Se dibuja una "línea de óptimo ajuste" a través de los puntos y las concentraciones de la muestra del paciente, y la L-fenilalanina de control puede leerse directamente de la curva estándar.

(b) Alternativamente, con la "línea de óptimo ajuste" dibujada a través de los puntos, la pendiente de la línea puede calcularse de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Pendiente de la curva} = \frac{\text{Absorbancia 570/690 nm Estándar S4} - \text{Absorbancia de Interceptación}}{\text{Conc. Estánd. L-fenilalanina S4 mg/dl}}$$

donde la "Absorbancia de Interceptación" es el valor de la absorbancia donde la línea de óptimo ajuste cruza el eje "y".

Las concentraciones de la muestra del paciente y de la L-fenilalanina de control son entonces calculadas de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Prueba/Control L-fenilalanina conc. mg/dl} = \frac{\text{Absorbancia de Prueba/Control} - \text{Absorbancia de Interceptación}}{\text{Pendiente de la curva Estándar}}$$

Ejemplo: Absorbancia de Prueba = 0,024  
Absorbancia de Interceptación = 0,012  
Pendiente de la Curva Estándar = 0,0055

$$\text{Concentración de la Prueba} = \frac{0,024 - 0,012}{0,0055} = 2,18 \text{ mg/dl}$$



## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening es un método cuantitativo para determinar la concentración de L-fenilalanina en muestras de manchas secas de sangre dentro de un programa de clasificación en recién nacidos. Los resultados elevados no son, de por sí, diagnósticos de FCU, pero indican la urgente necesidad de un estudio más a fondo del recién nacido de quien se haya obtenido el "presunto positivo".

En ciertas situaciones, la concentración de L-fenilalanina determinada a partir de una muestra de mancha seca de sangre puede no guardar relación con el estado clínico del recién nacido y provocar resultados positivos o negativos falsos.

Es de esperar una mayor incidencia de resultados negativos falsos cuando la muestra sea recolectada menos de 72 horas después del nacimiento o si el recién nacido no estaba recibiendo una dieta con contenido adecuado de lactosa durante las 24 horas anteriores al muestreo. [21-23]

Puede ocurrir una mayor incidencia de resultados positivos falsos en el análisis de muestras de heterocigotos, [24] debido a la capacidad reducida de depuración de la L-fenilalanina en recién nacidos de madres fenilcetonúricas, [25, 26] teniendo en cuenta la carga materna incrementada de L-fenilalanina, o en recién nacidos prematuros, como resultado de la inmadurez de los sistemas de depuración de la L-fenilalanina.

En TODAS las circunstancias que se acaban de describir, si se sospecha un resultado "negativo falso" o "positivo falso", se debe repetir inmediatamente el análisis en otro disco de la misma tarjeta. Si el resultado fuera de alguna forma ambiguo, se debe conseguir otra muestra o, si se le hubiera dado el alta al recién nacido, se debería hacer lo posible para conseguir muestras recientes tan pronto como sea posible para que se pueda determinar el verdadero estado clínico del recién nacido.

La prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening NO ha sido validada para su utilización con sangre heparinizada recogida por vía capilar. Este equipo no debe usarse con sangre del cordón umbilical.

## VALOR DE VARIACIÓN ESTIMADO

Se realizaron pruebas de rutina en un total de 738/3221 muestras de manchas de sangre de recién nacidos. Utilizando la media de esta población, más 3 desviaciones estándar (D.E.), se obtuvo un valor de corte de 2,68/2,71 mg/dl.

Se recomienda que cada laboratorio obtenga su propio valor de variación normal y de corte estadístico basándose en muestras de una población rutinaria de laboratorio.

Se debe tener cuidado al correlacionar el resultado obtenido en el laboratorio con el estado clínico del paciente basado en muestras de recién nacidos de menos de 48 horas de vida, prematuros y de bajo peso, así como de recién nacidos hospitalizados por enfermedad. La concentración de L-fenilalanina determinada a partir de las manchas de sangre de estas clases de recién nacidos puede no guardar relación con el verdadero estado clínico del recién nacido. Existen directrices para el procedimiento de recolección de muestras de recién nacidos de distintas clases (ej. P25 en "Clasificación de Recién Nacidos en el Estado de Nueva York: Guía para Profesionales de la Salud" Departamento de Salud del Estado de Nueva York). Sin embargo, se recomienda que cada laboratorio determine el procedimiento más apropiado para estas prácticas de trabajo.



## Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Kit para 500 pruebas, REF 532-5052

#### Especificidad

La recuperación media de L-fenilalanina, en presencia de 20 mg/dl de los siguientes aminoácidos comunes, fue de 94,90 % – 108,84 %.

- L-Alanina
- L-Arginina
- L-Asparagine
- Acido L-Aspártico
- L-Cisteína
- L-Cistina
- Acido L-Glutámico
- L-Glutámina
- Glicina
- L-Histidina
- Trans-4-Hydroilo-L-Prolina
- L-Isoleucina
- L-Leucina
- L-Lysina
- L-Metionina
- L-Prolina
- L-Serina
- L-Threonina
- L-Triptófano
- L-Tirosina
- L-Valina

#### Precisión

La precisión de la prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening fue evaluada en un estudio basado en la directriz NCCLS EP5-A2, segundo edición (2004) "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods" ("Evaluación de la precisión de los dispositivos de química clínica"). En este estudio se realizó un serie de análisis diario durante 20 días laborables.

Concentración media de L-fenilalanina mg/dl	D. E. Intraensayo	C.V. %	D. E. Intralaboratorio	C.V. %	n
2,456	0,177	7,23	0,266	10,86	40
4,563	0,258	5,66	0,290	6,35	40
8,242	0,262	3,18	0,451	5,47	40
16,686	0,984	5,90	1,018	6,10	40

#### Linealidad y Sensibilidad Analítica

La linealidad y la sensibilidad analítica de la prueba (concentración mínima detectable a partir de cero mg/dl) fueron evaluadas de acuerdo con las directrices EP6-A Propuestas por la NCCLS (2003) "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach".

Mínima detectable concentración (mg/dl)	Intervalo de trabajo (mg/dl)
0,430	0,430–21,42




**Kit para 2000 pruebas, REF 532-5053**
**Especificidad**

La recuperación media de L-fenilalanina, en presencia de 20 mg/dl de los siguientes aminoácidos comunes, fue de 94,53 % – 111,11 %.

- L-Alanina
- L-Arginina
- L-Asparagine
- Acido L-Aspártico
- L-Cisteína
- L-Cistina
- Acido L-Glutámico
- L-Glutámina
- Glicina
- L-Histidina
- Trans-4-Hydroilo-L-Prolina
- L-Isoleucina
- L-Leucina
- L-Lysina
- L-Metionina
- L-Prolina
- L-Serina
- L-Threonina
- L-Triptófano
- L-Tirosina
- L-Valina

**Precisión**

La precisión de la prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening fue evaluada en un estudio basado en la directriz NCCLS EP5-A2, segundo edición (2004) "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods" ("Evaluación de la precisión de los dispositivos de química clínica"). En este estudio se realizó un serie de análisis diario durante 20 días laborables.

Concentración media de L-fenilalanina mg/dl	D. E. Intraensayo	C.V. %	D. E. Intralaboratorio	C.V. %	n
2,490	0,151	6,06	0,171	6,88	40
4,380	0,244	5,57	0,325	7,42	40
8,195	0,418	5,10	0,466	5,69	40
16,137	0,925	5,73	1,119	6,93	40

**Linealidad y Sensibilidad Analítica**

La linealidad y la sensibilidad analítica de la prueba (concentración mínima detectable a partir de cero mg/dl) fueron evaluadas de acuerdo con las directrices EP6-A Propuestas por la NCCLS (2003) "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach".

Mínima detectable concentración (mg/dl)	Intervalo de trabajo (mg/dl)
0,364	0,364–21,42

**SUSTANCIAS INTERFERENTES**

Con la prueba Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening no se observó ninguna interferencia, por parte de conocidos antibióticos, productos no antibióticos y metabolitos.



### INFORMACIÓN SOBRE LA SEGURIDAD DEL PRODUCTO

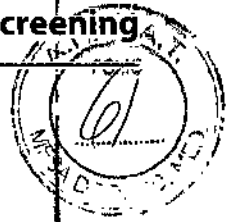
<b>Reactivo Coenzimático</b> contiene < 80 % 2-(N-Morpholino) ethane sulfonic acid		
<b>Atención</b>		
H315	Provoca irritación cutánea.	
H319	Provoca irritación ocular grave.	
H335	Puede irritar las vías respiratorias.	
P261	Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.	
P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.	
P305+P351+P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.	
P362	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.	
P304+P340	EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar.	
P501	Eliminar el contenido o el recipiente conforme a la reglamentación local/regional/nacional/internacional.	

### CONTACTOS PARA INFORMACIÓN TÉCNICA

Bio-Rad proporciona un número gratuito de asistencia técnica, disponible 24 horas al día, 7 días a la semana.

Para Estados Unidos y Puerto Rico, llamada gratuita al 1-800-2BIORAD (224-6723).

Para fuera de EE.UU, por favor, póngase en contacto con su oficina regional de Bio-Rad para conseguir asistencia técnica.

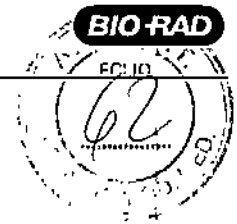


## REFERENCES, RÉFÉRENCES, LITERATUR, BIBLIOGRAFIA, REFERENCIAS, BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [ 1 ] Scriver C R, Kaufman S, Eisensmith R C, Woo S L C. (1995)  
*The Metabolic Basis of Inherited Diseases (Scriver C R, Beaudet A L, Sly W S, Valle D. eds.) Seventh edition. McGraw Hill 1015*
- [ 2 ] Jervis G A. (1953)  
*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 82 514
- [ 3 ] Waisbren S E, Mahon B E, Schnell R R, Levy H L. (1987)  
*Pediatrics* 79 351
- [ 4 ] Rylance G. (1989) Postgrad  
*Med. J.* 65 (Suppl 2) 57
- [ 5 ] Smith I, Beasley M G, Ades A E. (1990)  
*Arch. Dis. Childhood* 65 472
- [ 6 ] Kirkman H N, Carroll C L, Moore E G, Matheson M S. (1982)  
*Am. J. Hum. Genet.* 34 743
- [ 7 ] Mabry C C. (1990)  
*Ann. Clin. Lab. Sci.* 20 392
- [ 8 ] Guthrie R. (1961)  
*J. Am. Med. Assoc.* 178 863
- [ 9 ] Guthrie R, Susi A. (1963)  
*Pediatrics* 32 338
- [ 10 ] Hill J B, Summer G K, Hill H D. (1967)  
*Clin. Chem.* 13 77
- [ 11 ] Hoffman G L, Laessig R H, Hassemer D J, Makouski E R. (1984)  
*Clin. Chem.* 30 287
- [ 12 ] McCaman M W, Robins E. (1962)  
*J. Lab. Clin. Med.* 59 885
- [ 13 ] Fisch R O, Anthony B G, Bauer H, Bruhl H H. (1968)  
*J. Pediatr.* 73 685
- [ 14 ] Bracco G, Pargliadini S. (1983)  
*Lancet I* 1331
- [ 15 ] Clemens P, Voltmer C, Plettner C. (1985)  
*Lancet II* 778
- [ 16 ] Mabry C C, Reid M C, Kuhn R J. (1988)  
*Am. J. Clin. Pathol.* 90 279



## Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening



- [ 17 ] Oshima T, Sugimoto H, Soda K. (1988)  
*Anal. Lett.* 21 2205
- [ 18 ] Wendel U, Hummel W, Langenbeck U. (1989)  
*Anal. Biochem.* 180 9
- [ 19 ] Wendel U, Koppelkamm M, Hummel W, Sander J, Langenbeck U. (1990)  
*Clin. Chim. Acta* 192 165
- [ 20 ] Morris H C, Miller J, Campbell R S, Hammond P M, Berry D J, Price C P. (1988)  
*J. Antimicrob. Chemother.* 22 935
- [ 21 ] McCabe E R B, McCabe L, Mosher G A, Allen R J, Berman J L. (1983)  
*Pediatrics* 72 390
- [ 22 ] Doherty L B, Rohr F J, Levy H L. (1991)  
*Pediatrics* 87 240
- [ 23 ] Koch R, Twelmeyer D, Berlow S, McCabe E R B, McCabe L. (1984)  
*Pediatrics* 73 737
- [ 24 ] Levy H L, Shih V E, Karolkewicz V, French W A, Carr J R, Cass V, Kennedy J L, MacCready R A. (1971)  
*N. Eng. J. Med.* 285 424
- [ 25 ] Hanley W B, Clarke J T R, Schoonheydt W. (1987)  
*Clin. Biochem.* 20 149
- [ 26 ] Davidson D C. (1989) Postgrad  
*Med. J.* 65 (Suppl. 2) 510
- [ 27 ] CLSI (2013) Approved Standard NBS01-A6 Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs  
*Sixth Edition CLSI, Wayne, PA*
- [ 28 ] Slazyk W E, Hannon W H. (1993)  
*Laboratory Methods for Neonatal Screening (Therrell B L. ed.) American Public Health Association, Washington DC.* 23
- [ 29 ] Westgard J O, Klee G G. (1986)  
*Tietz Textbook of Clinical Chemistry (Burtis, C.A. & Ashwood, R. eds. ) 3RD edition.* W.B. Saunders Co. Philadelphia PA. 424.
- [ 30 ] National Committee for Clinical Laboratory Standards (1984)  
*Publication C24-P Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions.* NCCLS, Villanova, PA
- [ 31 ] HHS Publication No. (CDC) 21-1112, 5th ed. December 2009  
*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Washington, DC: US Government Printing Office.*
- [ 32 ] World Health Organization.  
*Laboratory Biosafety Manual.* 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004





880



**BIO-RAD**

REF 532-5041 Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening

Enzyme Reagent

CE ENZ REAG 14 mL

LOT 000000

Bio-Rad Laboratories GmbH, 80939 München, Germany

**BIO-RAD**

REF 532-5042 Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening 506734

Enzyme Reagent Diluent

CE ENZ REAG DIL 62 mL

2°C

< 0.1% NaN<sub>3</sub>

Bio-Rad Laboratories GmbH, 80939 München, Germany

**BIO-RAD**

REF 532-5043 Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening

Coenzyme Reagent

CE COENZ REAG 44 mL

LOT 000000

Bio-Rad Laboratories GmbH, 80939 München, Germany

**BIO-RAD**

REF 532-5044 Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening 506736

Colour Reagent

CE CLR REAG 220 mL

2°C

< 0.3% ISEPAL H412

Bio-Rad Laboratories GmbH, 80939 München, Germany

**BIO-RAD**

REF 532-5067 Quantase™ Neonatal Phenylalanine Screening

Enzyme Reagent

CE ENZ REAG 3.5 mL

LOT 000000

Bio-Rad Laboratories GmbH, München

Handwritten signature or initials.

*Handwritten signature*

**BIODIAGNOSTICO S.A.**  
**LAURA E. MERCAPIDE**  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 BIOQUÍMICA  
 APODERADA

8809



**BIO-RAD**

REF 532-5068 **Quantase™ Neonatal**

IVD **Phenylalanine Screening**

CE 0843

2°C  $\uparrow$  8°C

< 0.1% NaN<sub>3</sub>

Enzyme Reagent Diluent  
16 mL **ENZ REAG DIL**

Bio-Rad Laboratories GmbH  
Heidenmünsterstraße 164  
80939 München, Germany

508729

**BIO-RAD**

REF 532-5069 **Quantase™ Neonatal**

Phenylalanine Screening

CE 0843

Coenzyme Reagent  
11 mL **COENZ REAG**

2°C  $\uparrow$  4°C

0000-00-00

000000

Bio-Rad Laboratories GmbH 80939 München

Warning  
H412 H413 H414  
P273 P501  
EN 12883:2003  
EN 12883:2003

**BIO-RAD**

REF 532-5070 **Quantase™ Neonatal** 508731

IVD **Phenylalanine Screening**

CE 0843

Colour Reagent, 55 mL  
**CLR REAG**

2°C  $\uparrow$  8°C

< 0.3% IGEPAL  
H412

Bio-Rad Laboratories GmbH  
80939 München, Germany

*Handwritten signature*

*Handwritten signature*

**BIODIAGNOSTICO S.A.**  
LAURA E. MEROPIDE  
DIRECTORA TECNICA  
BIOQUIMICA  
APODERADA





**BIO-RAD**

REF 532-6130

**Quantase™ Neonatal**

**Phenylalanine & Total Galactose Screening**

Blood Spot Standards & Controls **DBS STD CTRL**

2°C 8°C

Bio-Rad Laboratories GmbH, Heidenmühlstraße 164  
80939 München, Germany

MS-31

**BIO-RAD**

REF 532-6131

**Quantase™ Neonatal**

**Phenylalanine & Total Galactose Screening**

Blood Spot Standards  
Standard S1 **DBS STD 1**

2°C 8°C

Bio-Rad Laboratories GmbH  
Heidenmühlstraße 164  
80939 München, Germany

506733

**BIO-RAD**

REF 532-6132

**Quantase™ Neonatal**

**Phenylalanine & Total Galactose Screening**

Blood Spot Standards  
Standard S2 **DBS STD 2**

2°C 8°C

Bio-Rad Laboratories GmbH  
Heidenmühlstraße 164  
80939 München, Germany

506733

*Handwritten signature*

*Handwritten signature*

**BIODIAGNOSTICO S.A.**  
**LAURA E. MERCAPIDE**  
 DIRECTORA TECNICA  
 BIOQUIMICA  
 APODERADA

8809



**BIO-RAD**

REF 532-6133 **Quantase™ Neonatal Phenylalanine & Total Galactose Screening**

IVD

CE 0843 Blood Spot Standards Standard S3 **DBS STD 3**

2°C 8°C

Bio-Rad Laboratories GmbH  
Heidemannstraße 164  
80939 München, Germany

506740

**BIO-RAD**

REF 532-6134 **Quantase™ Neonatal Phenylalanine & Total Galactose Screening**

IVD

CE 0843 Blood Spot Standards Standard S4 **DBS STD 4**

2°C 8°C

Bio-Rad Laboratories GmbH  
Heidemannstraße 164  
80939 München, Germany

506741

**BIO-RAD**

REF 532-6135 **Quantase™ Neonatal Phenylalanine & Total Galactose Screening**

IVD

CE 0843 Blood Spot Controls Control A **DBS CTRL A**

2°C 8°C

Bio-Rad Laboratories GmbH  
Heidemannstraße 164  
80939 München, Germany

506742

**BIO-RAD**

REF 532-6136 **Quantase™ Neonatal Phenylalanine & Total Galactose Screening**

IVD

CE 0843 Blood Spot Controls Control B **DBS CTRL B**

2°C 8°C

Bio-Rad Laboratories GmbH  
Heidemannstraße 164  
80939 München, Germany

506743

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*  
**BIODIAGNOSTICO S.A.**  
 LAURA E. MERCAPIDE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 BIOQUÍMICA  
 APODERADA