

MAGLUMI[®] Sífilis (CLIA)

USO INDICADO

El kit es un inmunoensayo por quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cualitativa de anticuerpos totales contra *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) en suero y plasma humanos usando el analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia totalmente automático de la serie MAGLUMI (se incluyen Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual causada por la bacteria espiroqueta *T. pallidum* subespecie *pallidum*¹. La principal vía de transmisión es a través del contacto sexual; también puede ser transmitida de la madre al feto durante el embarazo o en el momento del nacimiento. La sífilis puede causar complicaciones significativas y a menudo en combinación con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)². La sífilis puede presentarse en una de cuatro fases diferentes: primaria, secundaria, latente y terciaria, y también puede ocurrir de manera congénita³. Es difícil diagnosticar clínicamente la sífilis precozmente en su presentación⁴. La confirmación se hace mediante pruebas de sangre o la inspección visual directa con el microscopio. Los exámenes de sangre son los más comúnmente utilizados, ya que son más fáciles de realizar. Las pruebas de anticuerpos contra *T. pallidum* suelen ser positivas entre dos y cinco semanas después de la infección inicial^{5,6}. La neurosífilis se diagnostica tras detectar un elevado número de leucocitos (predominantemente linfocitos) y niveles altos de proteína en el líquido cefalorraquídeo en el cuadro de una infección por sífilis conocida. Los exámenes de diagnóstico, sin embargo, son incapaces de distinguir entre las fases de la enfermedad⁷.

Las respuestas de IgM tempranas y de IgG posteriores están dirigidas fundamentalmente contra el mismo grupo de antígenos y, aunque después del tratamiento y durante las fases posteriores de la enfermedad se atenúa la reactividad de IgM a muchos antígenos, la respuesta de IgG permanece y es responsable del efecto "serofast". Se producen anticuerpos IgM antitreponemas aproximadamente 2 semanas después de la exposición, seguidos por anticuerpos IgG 2 semanas después de la producción de IgM. Las respuestas tempranas son contra TpN47 y algunas de las proteínas flagelares, seguidas por TpN15 y TpN17.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de Sífilis es un inmunoensayo por quimioluminiscencia tipo sándwich.

Se mezclan la muestra (o calibrador/control, si procede), el búfer, los antígenos recombinantes específicos contra *T. pallidum* marcado con ABEI y las microperlas magnéticas recubiertas con antígenos recombinantes específicos para *T. pallidum*. Los anticuerpos totales presentes contra *T. pallidum* en la muestra se unen con los antígenos recombinantes específicos para *T. pallidum* y forman un complejo tipo sándwich. Se agrega de nuevo marcador ABEI. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y luego se realiza un ciclo de lavado. Posteriormente, se agrega el Sustrato 1+2 para iniciar una reacción quimioluminiscente. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades de luz relativa (RLU, por sus siglas en inglés), que es proporcional a la concentración de anticuerpos totales contra *T. pallidum* presente en muestras, calibradores o controles.

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componente	Contenido	100 pruebas (REF.: 130219003M)	50 pruebas (REF.: 130619003M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas con antígenos recombinantes específicos para <i>T. pallidum</i> , que contienen BSA, NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Baja concentración de anticuerpos contra <i>T. pallidum</i> , suero bovino, NaN ₃ (<0,1%).	3,0 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Alta concentración de anticuerpos contra <i>T. pallidum</i> , suero bovino, NaN ₃ (<0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
Búfer	Que contiene BSA, NaN ₃ (<0,1 %).	7,5 ml	5,0 ml
Marca de ABEI	Antígeno recombinante específico contra <i>T. pallidum</i> marcado con ABEI, que contiene BSA, NaN ₃ (<0,1 %).	22,5 ml	12,5 ml
Control negativo	Contiene suero bovino, NaN ₃ (<0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml
Control positivo	<i>Anticuerpo contra T. pallidum</i> , que contiene suero bovino, NaN ₃ (<0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml

Todos los reactivos se proporcionan listos para usar.

Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

Módulo de reacción	REF.: 630003
Iniciador 1 + 2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.:130299005M
Comprobación de luz	REF.:130299006M
Vaso de reacción	REF: 130105000101

Por favor, realice los pedidos de los accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método ha sido estandarizado con el Primer Estándar Internacional 05/132 de la OMS.

El test de prueba de calibradores específicos permite que los valores RLU se ajusten a la curva maestra asignada. Los resultados se determinan mediante una curva de calibración que es específica del instrumento y generada por una calibración de 2 puntos, y se proporciona una curva maestra (10 calibraciones) mediante el reactivo CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID, por sus siglas en inglés).

Se recomienda la recalibración si se produce cualquiera de las siguientes condiciones:

- Después de cada cambio de lotes (reactivo o sustrato 1+2).
- Cada 2 semana y/o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de requerir servicio del instrumento.
- Si los controles se encuentran fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Respete la frecuencia de control de calidad que se señale en las regulaciones gubernamentales o en los requisitos de autorización.

El control de calidad interno solo corresponde para el sistema MAGLUMI y Biolumi. Para obtener instrucciones de uso y el valor diana, consulte la **Información de control de calidad de sífilis (CLIA)**. El usuario debe juzgar los resultados según sus propias normas y conocimientos.

Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema, son necesarios materiales de control de calidad (controles positivo y negativo). Trate todas las muestras de control de calidad con los mismos niveles de cuidado que con las muestras del paciente. Cuando sea necesario, debe repetirse la medida del control de calidad. El nivel satisfactorio de rendimiento se obtiene cuando los valores obtenidos del análisis se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, tal cual queda determinado por un plan adecuado de control de calidad interno del laboratorio. Si los resultados del control de calidad no están dentro de los valores previstos ni dentro de los valores establecidos por el laboratorio, no informe los resultados. Lleve a cabo lo siguiente:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Compruebe que se haya llevado a cabo el servicio de mantenimiento requerido.
- Asegúrese de que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.

- Repita el ensayo con muestras de control de calidad nuevas.
- Si es necesario, póngase en contacto con su proveedor local de asistencia técnica o con el distribuidor.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Se han verificado y podrían aplicarse al ensayo muestras de suero recolectadas mediante tubos de muestreo estándares o tubos con gel separador y muestras de plasma recolectadas utilizando tubos con citrato de sodio, tubos con K2-EDTA, tubos con heparina de litio y tubos con heparina de sodio. Recoja la sangre asépticamente siguiendo las precauciones universales para venopunción.
- Asegúrese de que se haya realizado la formación completa del coágulo en las muestras antes de llevar a cabo la centrifugación. Algunas muestras séricas, especialmente las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante o trombolítico, pueden presentar un mayor tiempo de coagulación.
- Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Las muestras no deben contener fibrina ni otra sustancia particulada.
- No use muestras hemolizadas o sumamente lipémicas ni muestras que contengan material particulado o que tengan una evidente contaminación microbiana. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimine las burbujas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Evite las congelaciones y descongelaciones reiteradas. La muestra puede ser congelada y descongelada solo dos veces. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes de su uso (mezclador Vórtex). Las muestras congeladas deben mezclarse POR COMPLETO después de la descongelación mediante agitador vórtice de BAJA velocidad. Pregunte a su representante local de SNIBE para obtener información más detallada si tiene alguna duda.
- Las muestras centrifugadas con una capa lipídica en la parte superior deben ser trasladadas a un recipiente para muestras o a un tubo secundario. Debe tenerse cuidado en transferir únicamente la muestra aclarada sin el material lipémico.
- Todas las muestras (muestras de los pacientes o controles) deben ser analizadas dentro de las 3 horas siguientes tras ser instaladas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio SNIBE para un análisis más detallado de las limitaciones de almacenamiento de muestras del sistema.
- Las muestras extraídas del separador, los glóbulos rojos o los coágulos se pueden almacenar hasta por 96 horas a una temperatura entre 2 °C y 8 °C y almacenar hasta 3 meses congeladas a -20 °C o menos.
- Antes del envío de las muestras, se recomienda que a las muestras se les eliminen los coágulos, los glóbulos rojos o el separador. Cuando se despachan, las muestras deben ser envasadas y etiquetadas de acuerdo con las regulaciones estatales, federales e internacionales aplicables al transporte de muestras clínicas y sustancias infecciosas. Las muestras deben ser enviadas congeladas.
- El volumen de muestra requerido para una determinación única de anticuerpos totales contra *T. pallidum* es 80 µl.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

IVD

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Siga las instrucciones del folleto cuidadosamente. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si se presenta cualquier desviación de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **ATENCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras de origen humano. Se recomienda que todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y deben manejarse de acuerdo con la norma 29 CFR 1910.1030 sobre Exposición ocupacional a patógenos de transmisión hemática. Se deben utilizar prácticas de Bioseguridad Nivel 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para los materiales que contienen o se sospecha que contienen agentes infecciosos
- Todas las muestras, los reactivos y los materiales biológicos utilizados en el ensayo deben ser considerados como potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben ser eliminados de conformidad con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y cumpla con los requisitos reglamentarios vigentes.
- Este producto contiene azida sódica. La eliminación del contenido y de los recipientes debe realizarse conforme a todas las normas locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a petición.

Precauciones de manipulación

- No utilice los kits de reactivos después de la fecha de caducidad.
- No intercambie los componentes de reactivos de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit requiere ser mezclado para volver a dejar en estado de suspensión las microperlas magnéticas que se han asentado durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre la mezcla de las microperlas magnéticas, consulte la sección de Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, utilice guantes limpios cuando manipule un kit de reactivos y la muestra.
- Con el tiempo, pueden secarse líquidos residuales en la superficie del diafragma. Estas son generalmente sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.
- Para una discusión detallada de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenado a entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Abierto a entre 2 °C y 8 °C: La estabilidad mínima es 4 semanas.
- Dentro: La estabilidad mínima es 4 semanas.
- Para asegurar el mejor desempeño del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador tras finalizar el trabajo de prueba del día. Todavía es posible seguir utilizando el kit más allá del período de apertura o del período que permanece dentro si los controles se encuentran dentro de los rangos esperados.
- Mantenga el kit en posición vertical durante el almacenamiento para facilitar la resuspensión posterior adecuada de las microperlas magnéticas.
- Mantenga el kit lejos de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza automáticamente cuando el kit se carga correctamente, asegurando que las microperlas magnéticas estén totalmente resuspendidas de manera homogénea antes de su uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

DILUCIÓN

En este kit de reactivos no está disponible la dilución de las muestras mediante el analizador.

Las muestras con concentraciones superiores al intervalo de medición pueden diluirse manualmente. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Por favor, elija diluyentes aplicables o solicite asesoría a SNIBE antes de una dilución manual.

Efecto gancho en altas dosis

Se evaluó el efecto gancho en altas dosis por dilución secuencial de tres muestras positivas altas para sífilis con suero negativo para sífilis. No se detectó ningún resultado falso negativo debido al efecto gancho en altas dosis con el ensayo de sífilis.

LIMITACIONES

- Esta prueba es adecuada solo para investigar muestras individuales, no para *pool* de muestras o muestras inactivadas por calor.
- Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros métodos clínicos y de laboratorio para asistir al profesional clínico en la toma de decisiones para el diagnóstico individual de los pacientes.
- Si los resultados de sífilis son incompatibles con la evidencia clínica, se sugiere realizar pruebas adicionales para confirmar el resultado.
- La contaminación bacteriana o la repetición de los ciclos de congelamiento-descongelamiento pueden afectar los resultados de la prueba.
- Para ensayos que emplean anticuerpos, existe la posibilidad de interferencia por anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que han sido expuestos regularmente a animales o que han recibido inmunoterapia pueden contener anticuerpos anti-ratón (HAMA), lo que puede ocasionar valores altos o bajos erróneos. Además, otros anticuerpos heterófilos, como los anticuerpos humanos anticabra, pueden estar presentes en las muestras de los pacientes. Puede ser necesaria información de diagnóstico o clínica adicional para determinar el estado del paciente.
- Ninguna prueba de diagnóstico ofrece una garantía absoluta de que la muestra no contenga niveles bajos de anticuerpos contra TP, como los presentes en una fase muy temprana de la infección. Por lo tanto, un resultado negativo en cualquier momento no excluye la posibilidad de exposición a la infección por sífilis. Es posible que se requiera de información adicional para el diagnóstico.
- Son esperables resultados falso-positivos con cualquier kit de prueba. La proporción de estas muestras que reaccionan falsamente depende de la especificidad del kit de prueba, de la integridad de la muestra y de las características de la población local a ser examinada.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración en cada muestra por medio de una curva maestra que es generada por un procedimiento de curva maestra de calibración de 2 puntos. Los resultados se expresan en mIU/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

Los resultados obtenidos con el ensayo de Sífilis pueden interpretarse como se indica a continuación:

- No reactivo: Un resultado menor que 1,0 mIU/ml (<1,0 mIU/ml) se considera negativo.
- Reactivo: Un resultado mayor que o igual a 1,0 mIU/ml ($\leq 1,0$ mIU/ml) se considera positivo.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Precisión

La precisión del ensayo para sífilis fue evaluada en conformidad con el documento CLSI EP05-A2. Se analizaron 2 controles y 3 *pools* de suero humano con diferente concentración de analito, en duplicado en dos ejecuciones independientes por día, durante 20 días de prueba. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	Media (mIU/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		DE (mIU/ml)	% CV	DE (mIU/ml)	% CV	DE (mIU/ml)	% CV
Positivo bajo	2,482	0,123	4,94	0,111	4,49	0,166	6,67
Moderadamente positivo	20,043	0,586	2,92	0,477	2,38	0,756	3,77
Positivo alto	100,048	2,748	2,75	1,484	1,48	3,123	3,12
Control negativo	0,009	0,002	NA	0,002	NA	0,003	NA
Control positivo	10,004	0,327	3,27	0,287	2,87	0,435	4,35

Resultados clínicos

Prueba	Reactivo de comparación		Total
	Positivos	Negativos	
Ensayo para sífilis	534	0	534
	0	745	745
Total	534	745	1279

La sensibilidad es del 100 %, CI 95 % (99,91 % – 100 %), la especificidad es del 100 %, CI 95 % (99,92 % – 100 %).

Especificidad analítica

Se evaluó el ensayo para sífilis para detectar posible reactividad cruzada con otras infecciones virales y muestras en estado patológico. Los resultados se muestran en la tabla a continuación:

Categoría clínica	Cantidad de no reactivos	Cantidad de reactivos
Hemólisis	6	0
Hiperlipidemia	11	0
Ictericia	13	0
Factores reumatoides	14	0
ANA positivo	18	0
Anti-EBV positivo	12	0
Anti-CMV positivo	11	0
Anti-HAV positivo	1	0
Anti-HBV positivo	29	0
Anti-HCV positivo	13	0
Lupus eritematoso sistémico	1	0
Virus de la influenza A	5	0
Muestras de mujeres embarazadas	17	0
Total	151	0

Sensibilidad de seroconversión

La sensibilidad del ensayo de sífilis se evaluó mediante pruebas de muestras secuenciales de los paneles de seroconversión SeraCare. Los resultados del panel de seroconversión PSS901 se muestran en la siguiente tabla (Se muestran los datos representativos de rendimiento. Los resultados obtenidos en los laboratorios individuales pueden variar):

Panel de seroconversión	Días desde el primer sangrado	Sífilis Snibe (mIU/ml)	Trinity Biotech Trep-Sure Syphilis (Índice)*	DiaSorin Liaison Treponema Syphilis*
PSS901-01	0	0,462	1,07	NEG
PSS901-02	5	0,760	0,475	NEG
PSS901-03	10	0,755	0,419	NEG
PSS901-04	13	1,099	0,576	NEG

PSS901-05	31	1,768	3,68	NEG
PSS901-06	45	5,253	4,07	POS
PSS901-07	48	11,008	4,98	POS
PSS901-08	52	31,726	4,20	POS
PSS901-09	59	74,235	11,2	POS

Aviso: 1. * Datos del proveedor.

2. Los resultados considerados reactivos están señalados en negrita.

Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 60 mg/dl
- Triglicérido 2000 mg/dl
- Hemoglobina 500 mg/dl
- RF 1500 IU/ml
- HAMA 30 ng/ml

REFERENCIAS

1. Burstain J M, Grimprel E, Lukehart S A, et al. Sensitive detection of *Treponema pallidum* by using the polymerase chain reaction[J]. Journal of clinical microbiology, 1991, 29(1): 62-69.
2. Lynn W A, Lightman S. Syphilis and HIV: a dangerous combination[J]. The Lancet infectious diseases, 2004, 4(7): 456-466.
3. Kent M E, Romanelli F. Reexamining syphilis: an update on epidemiology, clinical manifestations, and management[J]. Annals of Pharmacotherapy, 2008, 42(2): 226-236.
4. Stamm L V. Global challenge of antibiotic-resistant *Treponema pallidum*[J]. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2010, 54(2): 583-589.
5. Young H. Guidelines for serological testing for syphilis[J]. Sexually Transmitted Infections, 2000, 76(5): 403-405.
6. Kiss S, Damico F M, Young L H. Ocular manifestations and treatment of syphilis[C]//Seminars in ophthalmology. UK: Informa UK Ltd, 2005, 20(3): 161-167.
7. Schmidt B L, Edjalipour M, Luger A. Comparative Evaluation of Nine Different Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Determination of Antibodies against *Treponema pallidum* in Patients with Primary Syphilis[J]. Journal of clinical microbiology, 2000, 38(3): 1279-1282.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.23, Jinxu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China

Tel.: +86-755-21536601 Fax: +86-755-28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany

Tel.: +49-40-2513175 Fax: +49-40-255726

EXPLICACIONES DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Límite de temperatura (Almacenar a entre 2 °C y 8 °C)		Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para		Mantener lejos de la luz solar
	Este lado hacia arriba		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Componente del kit
	Número de catálogo		Código de lote