

*Proyecto manual de instrucciones***WL Check Syphilis**

Prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos totales contra *Treponema pallidum* en suero, plasma o sangre entera.

FINALIDAD DE USO

WL Check Syphilis es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos totales contra *Treponema pallidum* en suero, plasma o sangre entera, en la población en general. Es un método manual, de tamizaje que ayuda al diagnóstico de la infección por el *Treponema pallidum*. Destinado a profesionales bioquímicos, para uso en laboratorios de bacteriología, análisis clínicos, clínicas médicas, guardias y servicios de urgencia.

SIGNIFICACION CLINICA

Treponema pallidum (Tp) es una bacteria causante de la sífilis, enfermedad venérea.

La detección serológica de anticuerpos anti-Tp se ha reconocido desde hace mucho tiempo para el diagnóstico de la sífilis, ya que el curso natural de la infección se caracteriza por períodos sin manifestaciones clínicas. Se detectaron anticuerpos IgM e IgG contra *Treponema pallidum* en sueros de pacientes con sífilis primaria y secundaria. El anticuerpo IgM puede detectarse en la segunda semana de infección, mientras que los anticuerpos IgG aparecen más tarde, aproximadamente a las 4 semanas. Los anticuerpos contra *Treponema pallidum* pueden durar varios años o incluso décadas en el suero de un paciente con sífilis latente no tratada.

Antígenos como Rapid Plasma Reagin (RPR) y extractos bacterianos Tp se han utilizado en pruebas serológicas de sífilis durante décadas. Sin embargo, el antígeno RPR es un antígeno no treponémico derivado del corazón bovino. Los anticuerpos contra el antígeno RPR no se desarrollan hasta 1-4 semanas después de la aparición del chancro, por lo que este antígeno carece de sensibilidad a la sífilis primaria. Los extractos de Tp se preparan a partir de testículos de conejo inoculados y contienen materiales contaminados, como flagelos, que pueden provocar reacciones cruzadas con borrelias y leptospirosis en la prueba serológica. Además, la composición de los extractos puede variar de un lote a otro. Recientemente, se han identificado varios antígenos específicos de Tp altamente inmunogénicos y se han utilizado como alternativa a los antígenos tradicionales con las ventajas de una alta especificidad y reproducibilidad.

FUNDAMENTOS DEL METODO

WL Check Syphilis es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) contra *Treponema pallidum* en suero, plasma o sangre entera.

La prueba consta de un cassette plástico que contiene:

1) un pad de conjugado coloreado que contiene antígenos recombinantes de Tp conjugados a oro coloidal y un anticuerpo de control también conjugado a oro coloidal y 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene una línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La línea de prueba (T) está sensibilizada con antígenos recombinantes de Tp, no conjugados. La línea de control (C) se encuentra sensibilizada con un anticuerpo de control.

Cuando se agrega la muestra en el pocillo de muestra (S), la misma migra por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa. Si los anticuerpos anti-Tp están presentes en la muestra, migrarán a través del pad y se unirá al conjugado de antígenos recombinantes de Tp-oro coloidal. Luego, el inmunocomplejo será capturado en la membrana por el antígeno de Tp inmovilizado en la zona de prueba (T), formando

una línea coloreada que indica un resultado positivo o reactivo para anticuerpos anti-Tp. La falta de desarrollo de color en la línea de prueba indica un resultado negativo o no reactivo para anticuerpos anti-Tp.

Como control de procedimiento, la prueba incluye una zona de control (línea C). La ausencia de esta línea invalida los resultados.

REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** sobres sellados con desecante conteniendo un cassette plástico compuesto por una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con antígenos recombinantes de *Treponema pallidum* y conjugado de antígenos recombinantes de Tp
- B. Reactivo B:** buffer Tris conteniendo azida sódica 0,095%.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Listo para usar.

PRECAUCIONES

- Leer la información contenida en este manual de instrucciones por completo antes de realizar la prueba.
- Para uso profesional de diagnóstico “in vitro”.
- No realizar la prueba si el envase está dañado.
- No utilizar pasada la fecha de vencimiento indicada en el envase.
- Esta prueba proporciona un resultado cualitativo y visual. Es necesaria una buena fuente de luz para la lectura de los resultados.
- El cassette debe permanecer en la bolsa sellada hasta el momento de usar.
- Ensayar sólo una muestra por cassette. No combinar muestras.
- Permitir que los reactivos alcancen temperatura ambiente (15-30°C) antes de usar.
- No mezclar reactivos de diferentes lotes.
- No utilizar reactivos y materiales de otro origen.
- No utilizar muestras hemolizadas.
- Evitar la formación de burbujas en el pocillo de muestra “S” tanto al colocar la muestra como el Reactivo B. Al dispensar el Reactivo B descartar cualquier gota con burbuja.
- En caso de que la corrida no inicie se debe agregar una gota extra de buffer.
- Utilizar guantes, guardapolvo y protección ocular.
- Lavar bien las manos después de realizar la prueba.
- No fumar, beber ni comer en áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
- No tocar la membrana de nitrocelulosa con los dedos.
- Los resultados de la prueba deben leerse entre 15 y 20 minutos después de aplicar una muestra al pocillo de muestra del dispositivo. La lectura del resultado de la prueba después de 20 minutos debe considerarse inválida y debe repetirse.
- No realizar la prueba en una habitación con fuerte flujo de aire como ventilador o aire acondicionado fuerte.
- Todas las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y manipularse de la misma manera que un agente infeccioso.
- Los reactivos y las muestras deben ser descartados de acuerdo con la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

El kit es estable entre 2 y 30°C hasta la fecha de vencimiento indicada en el envase. No congelar ni exponer a temperaturas mayores a 30°C. El cassette debe permanecer en su sobre original sellado hasta el momento de usar, conservado a 2-30°C. Si se almacena a 2-10°C, asegúrese de que el cassette alcance la temperatura ambiente antes de extraerlo de su envoltorio.

MUESTRA

Suero, plasma o sangre entera

a) Recolección:

- Suero: obtener el suero de la manera usual.
- Plasma o sangre entera (punción venosa o capilar): se pueden usar EDTA, citrato o heparina como anticoagulantes.

b) Estabilidad y almacenamiento: separar el suero o el plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. No utilizar muestras hemolizadas, lipémicas o con turbidez. Muestras con partículas visibles deben centrifugarse antes de realizar la prueba.

Las muestras de suero o plasma deben analizarse inmediatamente después de la recolección o almacenarlas a 2-10°C hasta 5 días. Las muestras se pueden congelar a -20°C para un almacenamiento más prolongado. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Antes de realizar la prueba, las muestras congeladas deben llevarse a temperatura ambiente lentamente y mezclarse suavemente.

Las muestras de sangre entera deben analizarse inmediatamente o almacenarlas a 2-10°C hasta 24 horas después de la recolección. No congelar las muestras de sangre.

c) Transporte: si las muestras deben ser transportadas, embalar de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- Dispositivos plásticos descartables para dispensar la muestra en cantidad suficiente según el nº de determinaciones (no provisto con todas las presentaciones)

2- No provisto

- Timer o cronómetro
- Micropipeta automática (para las presentaciones que no proveen dispositivos descartables)

PROCEDIMIENTO

1. Permita que el cassette, la muestra y los componentes del kit alcancen temperatura ambiente antes de comenzar la prueba. Si la muestra está congelada, mezcle bien antes de realizar el ensayo una vez descongelada.
2. Cuando esté listo para realizar la prueba, abra la bolsa y retire el cassette. Coloque el mismo sobre una superficie limpia y plana.
3. Etiquete el cassette con el número de identificación de la muestra.
4. Con micropipeta o dispositivo descartable en posición vertical, dispense 1 gota (aproximadamente 45 µL) de suero / plasma o 1 gota (aproximadamente 45 µL) de sangre entera en el centro del pocillo de la muestra (S), asegurándose de que no haya burbujas de aire.
Inmediatamente, agregue 1 gota (aproximadamente 50 µL) de buffer (Reactivo B) al pocillo de muestra con el vial colocado verticalmente.
5. Inicie el cronómetro.
6. Lea los resultados a los 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 minuto.

interpretado fuera de la ventana de 15 a 20 minutos debe considerarse inválido y debe repetirse. Deseche el dispositivo usado después de interpretar los resultados siguiendo las leyes locales que rigen la eliminación del dispositivo.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

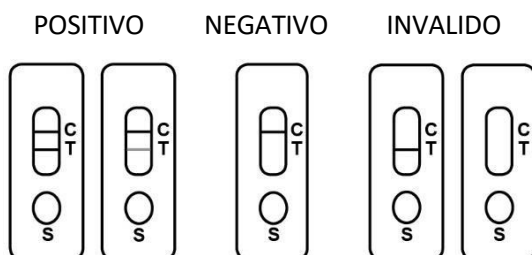
POSITIVO O REACTIVO: Aparecen dos líneas de color. Una línea en la región de control (C) y otra en la región de prueba (T). Indica presencia de anticuerpos anti-Tp detectable.

Las muestras que producen líneas de prueba muy tenues (indeterminadas) deben volver a probarse con otros dos dispositivos o con un método alternativo.

Las muestras con resultados reactivos deben confirmarse con métodos de prueba alternativos y hallazgos clínicos antes de realizar un diagnóstico.

NEGATIVO O NO REACTIVO: Aparece una línea de color en la región de control (C) y no aparece ninguna línea coloreada en la región de prueba (T). Indica que no hay anticuerpos anti-Tp detectables en la muestra.

INVALIDO: La línea de control (C) no aparece. El ensayo no es válido independientemente del desarrollo de color en la línea T. Repita el ensayo con un dispositivo nuevo.



CONTROL DE CALIDAD

Control interno: esta prueba contiene una función de control incorporada, la línea C. La línea C se desarrolla después de agregar la muestra y el buffer. Si la línea C no se desarrolla, se debe repetir el ensayo utilizando un nuevo dispositivo.

Control externo: las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para garantizar el rendimiento adecuado del ensayo, especialmente en las siguientes circunstancias:

- Un operador nuevo.
- Se utiliza un nuevo lote de kit.
- La temperatura de conservación del kit está fuera del rango 2-30°C.
- La temperatura del área de prueba está fuera del rango 15-30°C.
- Para verificar una frecuencia superior a la esperada de resultados positivos o negativos.
- Para investigar la causa de repetidos resultados no válidos.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- **WL Check Syphilis** es una prueba cualitativa para la detección de anticuerpos contra el *Treponema pallidum*. Cualquier resultado obtenido con esta prueba debe ser confirmado por otros métodos y cotejado con los datos clínicos del paciente antes de realizar el diagnóstico definitivo.
- La intensidad de color de la línea "T" no necesariamente se correlaciona con la concentración de anticuerpos anti-Tp presentes en la muestra.

- Un resultado negativo indica la ausencia de anticuerpos anti-Tp detectables. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o infección por Tp.
- Las muestras que producen líneas muy tenues (indeterminadas) deben volver a analizarse con dos dispositivos nuevos o con un método alternativo.
- La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten mientras el resultado de la prueba **WL Check Syphilis** es no reactivo, se recomienda realizar la prueba con un método alternativo.
- Puede producirse un resultado negativo o no reactivo si la concentración de anticuerpos anti-Tp presentes en la muestra está por debajo del límite de detección del ensayo o si los anticuerpos no estaban presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se tomó la muestra.
- Algunas muestras que contienen títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.
- No seguir el procedimiento y la interpretación de los resultados del ensayo en forma correcta puede dar lugar a resultados inexactos.

PERFORMANCE

a) Sensibilidad diagnóstica

Sensibilidad diagnóstica en muestras positivas:

El dispositivo de detección rápida **WL Check Syphilis** se ha comparado con un producto ELISA recombinante comercial como referencia. De un total de 212 muestras positivas para el test ELISA recombinante, 207 fueron positivas por **WL Check Syphilis**, obteniéndose una sensibilidad del 97.6% con un IC 95% = (94.7-99.0%).

b) Especificidad diagnóstica

El dispositivo de detección rápida **WL Check Syphilis** se ha comparado con un producto ELISA recombinante comercial como referencia. De un total de 181 muestras negativas para el test ELISA recombinante, 181 fueron negativas por **WL Check Syphilis**, obteniéndose una especificidad del 100.0% con un IC 95% = (97.9- 100.0%).

c) Sensibilidad analítica

Límite de detección:

Se determina el límite de detección para el kit WL Check Syphilis que corresponde a una dilución 1/400 de la muestra del paciente.

d) Especificidad analítica:

Estudio de interferencias poblacionales

Se evaluaron posibles interferencias endógenas en diferentes poblaciones. Las muestras positivas se confirman mediante el uso de TPPA y ELISA comercial.

- ☐ En 200 muestras de pacientes hospitalizados evaluadas con WL Check Syphilis, se obtuvieron 5 falsos positivos, todos negativos para los métodos referencia TPPA y ELISA. Especificidad: 97,5 %
- ☐ En 200 muestras de mujeres embarazadas evaluadas con WL Check Syphilis, se obtuvo 1 falso positivo, negativo para los métodos referencia TPPA y ELISA. Especificidad: 99,5 %

Estudio de interferencias

las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron (en concentraciones superiores a los niveles fisiológicos) en muestras positivas y negativas para sífilis y se analizaron con **WL Check Syphilis**. No se observaron interferencias en las concentraciones analizadas para todas las sustancias.

Sustancia	Recomendado por CLSI o Justificación EP17A	Sustancia	Recomendado por CLSI o Justificación EP17A
Bilirrubina	20 mg/dL	Acido salicílico	4.34 mmol/L
Creatinina	442 umol/L	Heparina	3000 U/L
Glucosa	55 mmol/L	EDTA	3.4 umol/L
Albúmina	50 g/L	Citrato de sodio	3.8%
IgG	1000 mg/dL	N/A	

Estudio de Reacciones cruzadas

Se evaluó la posible aparición de reactividad cruzada ensayando muestras provenientes de 168 individuos con diferentes condiciones clínicas que pueden ser causantes de reacciones inespecíficas para el ensayo WL Check Syphilis. Estas condiciones incluyen: Adenovirus, Brucelosis, Chagas, Citomegalovirus, Factor Reumatoide, HBsAg y HBV anti-core, Hepatitis C, Hepatitis A, HIV, anti-Helicobacter pylori, Mycoplasma pneumoniae, anti-Parvovirus, Proteína C Reactiva, anti-Toxoplasmosis, Salmonella, Dengue, Chlamydia, Tuberculosis. La elección de las muestras trata de representar las principales sustancias virales, bacterianas y autoinmunes que pueden generar efectos de reacción cruzada potenciales.

No se observó reactividad cruzada para esta población, la especificidad fue de 100% con un IC_{95%}= 97.8%-100%.

Efecto Hook o prozona:

No se observó efecto Hook ya que no hubo pérdida de reactividad a medida que aumenta la concentración de anticuerpos anti-*T. pallidum*.

e) Precisión

Precisión intra-ensayo: se determinó ensayando 10 replicados de 8 muestras de suero, 4 muestras positivas para sífilis y 4 muestras negativas. Se obtuvo una precisión del 100% en ambas muestras.

Precisión inter-ensayo: se determinó ensayando la repetición de 2 muestras de suero, una positiva para sífilis y otra negativa, durante 4 días. Se obtuvo una precisión del 100%.

PRESENTACION

- 25 determinaciones
- 25 determinaciones c/dispositivos descartables
- 50 determinaciones
- 50 determinaciones c/dispositivos descartables

BIBLIOGRAFIA

- Centers for Disease Control and Prevention. Chlamydia trachomatis infections: policy guidelines from prevention and control. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 1995; 34:53S-74S.
- Tichonova, L., K. Borisenko, H.Ward, A.meheus, et al. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: Trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997; 350:210-3.
- Gerbase, A. C., J. T. Rowley, D. H. Heymann, et al. Global prevalence and incidence estimates of selected

curable STDs. Sex. Transm. Infect. 1998; 74:S12-6.

- Luger AFH. Serological Diagnosis of Syphilis: Current methods. In: Young H, McMillan A, eds. Immunological diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: Marcel Decker. 1988: 249-74.
- Baker-Zander SA, Hook EW 3rd, Bonin P, et al. Antigens of Treponema pallidum recognized by IgG and IgM antibodies during syphilis in humans. J Infect Dis. 1985; 151(2):264-72.
- Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of treponema pallidum in Escherichia Coli. Infect Immun. 1986; 54:500-6.
- Purcell BK, Chamberlain NR, Goldberg MS, et al. Molecular cloning and characterization of the 15-kilodalton major immunogen of Treponema pallidum. Infect Immun. 1989; 57(12):3708-14.
- Bailey MJ, Thomas CM, Cockayne A, et al. Cloning and expression of Treponema pallidum antigens in Escherichia coli. J Gen Microbiol. 1989; 135 (Pt 9):2365-78.
- Sambri V, Marangoni A, Simone MA, et al. Evaluation of recomWell Treponema, a novel recombinant antigen-based enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of syphilis. Clin Microbiol Infect. 2001; 7(4):200-5.
- Rufli T. Syphilis and HIV infection. Dermatologica. 1989; 179:113-117.

NO APTO PARA BANCO DE SANGRE

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

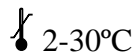

Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TECNICA

Proyecto Cajas

Wiener lab.
WL Check Syphilis



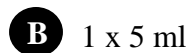
25



2-30°C



25



1 x 5 ml

Industria Argentina



Wiener Laboratorios S.A.I.C.

Riobamba 2944

2000 Rosario - Argentina

<http://www.wiener-lab.com.ar>

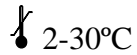


Uso profesional exclusivo
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-224
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica

NO APTO PARA BANCO DE SANGRE

Wiener lab.
WL Check Syphilis

25



2-30°C

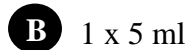


ND

Cont.



25



1 x 5 ml

Disp.	Desc.	25
-------	-------	----

Industria Argentina



Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>

LOT

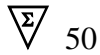


REF

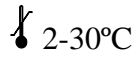
Uso profesional exclusivo
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-224
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica

NO APTO PARA BANCO DE SANGRE

Wiener lab.
WL Check Syphilis



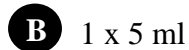
50



2-30°C



50



1 x 5 ml

Industria Argentina



Wiener Laboratorios S.A.I.C.

Riobamba 2944

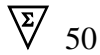
2000 Rosario - Argentina

<http://www.wiener-lab.com.ar>

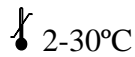


Uso profesional exclusivo
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-224
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica

NO APTO PARA BANCO DE SANGRE

Wiener lab.
WL Check Syphilis

50



2-30°C



ND

Cont.

A 50**B** 1 x 5 ml

Disp.	Desc.	50
-------	-------	----

Industria Argentina



Wiener Laboratorios S.A.I.C.

Riobamba 2944

2000 Rosario - Argentina

<http://www.wiener-lab.com.ar>

LOT



REF

Uso profesional exclusivo
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-224
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica


NO APTO PARA BANCO DE SANGRE

WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TECNICA

Proyecto rótulos

Wiener lab.
WL Check Syphilis

A 2-30°C

IND


LOT



Wiener lab.
WL Check Syphilis

B

5 ml

 2-30°C

IND

LOT

**WIENER Laboratorios S.A.I.C.**
Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TECNICA



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: ROTULOS E INSTRUCCIONES DE USO WIENER Laboratorios S.A.I.C.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 12 pagina/s.