



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-006930-23-0

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-006930-23-0 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones altona Diagnostics Argentina SRL solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

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

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

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

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

Por ello;

LA ADMINISTRADORA NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0, de acuerdo con lo solicitado por Altona Diagnostics Argentina SRL con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2024-30495878-APN-DVPCYAR#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 2436-25 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0

Marca comercial: RealStar®

Modelos:

RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0

Indicación/es de uso:

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 es un test diagnóstico in vitro, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección cualitativa del ARN específico de virus del Nilo Occidental (WNV). El test incluye un sistema de amplificación heterólogo (control interno) para identificar una posible inhibición de RT-PCR y para confirmar la integridad de los reactivos del kit.

Forma de presentación: El kit permite 96 determinaciones y está compuesto por:

- Master A: 8 viales de 60 μ vial
- Master B: 8 viales de 180 μ vial
- Control Interno: 1 vial de 1000 μ
- Control Positivo: 1 vial de 250 μ
- Agua indicada para PCR: 1 vial de 500 μ

Período de vida útil y condición de conservación: Período de vida útil: 15 MESES - Condiciones de conservación: -25°C / -15°C

Nombre del fabricante:
altona Diagnostics GmbH

Lugar de elaboración:
Mörkenstrasse12, 22767 Hamburgo, Alemania.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-006930-23-0

N° Identificadorio Trámite: 53748

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.03.26 17:01:06 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.03.26 17:01:10 -03:00

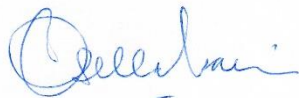
MODELO DE ROTULO e INSTRUCCIONES DE USO

RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0

PM 2436-25

altona Diagnostics Argentina SRL

**Registro de Producto para diagnóstico uso “*in vitro*” importado
Disposición ANMAT 2198/2022 y 2674/99.**



Farm. Karin Osella
Directora Técnica
MN 11724



Hans Kuhn
Representante Legal

ROTULO

Se acondiciona con una etiqueta que contiene los datos siguientes:

- Nombre del producto:
- Leyenda: “IVD importado”
- Importado y distribuido por:
- Domicilio:
- Habilitación N° 2436.
- Director Técnico:
- Leyenda: Autorizado por ANMAT N° PM 2436-25
- N° de Despacho:
- Leyenda: “USO PROFESIONAL EXCLUSIVO”
- Leyenda: “LEA ATENTAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES”

RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0
IVD importado
Autorizado por ANMAT - PM 2436-25
Importado y distribuido por:
altona Diagnostics Argentina S.R.L
Av. Cabildo 4447, piso 9, CABA. Argentina.
Habilitación: N° 2436.
Directora Técnica: Farm. Karin Osella.
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.
LEA ATENTAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES

Ya viene de origen con los siguientes datos en el envase secundario:

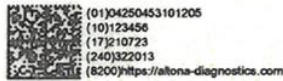
- Nombre del producto:
- Número de lote:
- Fecha de vencimiento:
- Constitución del kit, número de determinaciones posibles
- Indicación de unidades métricas
- Indicación de condiciones de almacenamiento y transporte.
- Nombre y domicilio de establecimiento elaborador

ETIQUETAS DE ORIGEN

Etiquetas de caja: envase secundario

RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0

For detection of West Nile virus
(WNV) specific RNA



REF 322013
LOT 123456
GTIN 4250453101205
▽ 96
⌚ 2021-07-23
-25°C / -15°C



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12
22767 Hamburg • Germany

RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0

CAP	COMP	NUM x CONT
●	Master A	8 x 60 µl
●	Master B	8 x 180 µl
●	Internal Control	1 x 1000 µl
○	Water (PCR grade)	1 x 500 µl
●	Positive Control	1 x 250 µl

Etiquetas de los tubos: envase primario (tubos)

Master A



Master B



Control Positivo



Control interno



Agua calidad PCR



Instrucciones de uso

RealStar[®] WNV RT-PCR Kit 2.0

03/2020 ES

RealStar[®]

WNV RT-PCR Kit 2.0

Para utilizar con

Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
LightCycler® 480 Instrument II (Roche)
Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)



322013



96



03 2020



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

Contenido

1.	Uso indicado.....	6
2.	Componentes del kit.....	6
3.	Almacenamiento	7
4.	Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados	8
5.	Información general.....	9
6.	Descripción del producto.....	10
6.1	Instrumentos de PCR en tiempo real.....	12
6.2	Tipos de muestras.....	12
7.	Advertencias y precauciones	13
8.	Procedimiento	15
8.1	Preparación de las muestras	15
8.2	Preparación de la Master Mix	18
8.3	Preparación de la reacción	20
9.	Programación de los instrumentos de PCR en tiempo real.....	21
9.1	Configuración	21
9.2	Detectores de fluorescencia (colorantes).....	21
9.3	Perfil de temperatura y detección de fluorescencia	22
10.	Análisis de datos.....	22
10.1	Validez de las series de pruebas diagnósticas	23
10.1.1	Serie válida de pruebas diagnósticas	23
10.1.2	Serie no válida de pruebas diagnósticas	23
10.2	Interpretación de los resultados	23
10.2.1	Análisis cualitativo.....	24

11.	Evaluación de rendimiento	24
11.1	Sensibilidad analítica	24
11.2	Especificidad analítica.....	26
11.3	Precisión	27
12.	Limitaciones	28
13.	Control de calidad.....	29
14.	Asistencia técnica.....	29
15.	Bibliografía	29
16.	Marcas comerciales y aviso legal.....	30
17.	Explicación de los símbolos	31

1. Uso indicado

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 es un test diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección cualitativa del ARN específico de virus del Nilo Occidental (WNV).

2. Componentes del kit

Color tapa	Componente	Número de viales	Volumen [µl/vial]
Azul	Master A	8	60
Violeta	Master B	8	180
Verde	Internal Control	1	1000
Rojo	Positive Control	1	250
Blanco	Water (PCR grade)	1	500

Internal Control = Control interno

Positive Control = Control positivo

Water (PCR grade) = Agua indicada para PCR

PRECAUCIÓN



Antes del primer uso, compruebe el producto y sus componentes para ver si están completos en cuanto a número, tipo y relleno. No utilice un producto incompleto o defectuoso, podría perjudicar el rendimiento.

3. Almacenamiento

- El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se envía en hielo seco. Los componentes del kit deberían llegar congelados. Si uno o más componentes no estuvieran congelados en el momento de la recepción, o si la integridad de los tubos se ha puesto en peligro durante el envío, póngase en contacto con Altona Diagnostics GmbH para obtener ayuda.
- Todos los componentes deben almacenarse entre -25 y -15 °C tras su llegada.
- Debe evitarse la descongelación y congelación reiterada de los reactivos Master (más de dos veces), ya que podría repercutir en el rendimiento de la prueba de valoración. Los reactivos deben congelarse en alícuotas si se van a utilizar de manera intermitente.
- El almacenamiento entre +2 y +8 °C no debe superar un período de dos horas.
- Proteja Master A y Master B de la luz.

PRECAUCIÓN



Las condiciones de almacenamiento incorrectas pueden perjudicar el rendimiento del producto.

PRECAUCIÓN



No exceda la secuencia de congelación y descongelación ni las duraciones de manipulación especificadas en estas Instrucciones de uso.

PRECAUCIÓN



No utilice componentes de productos después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del componente.

4. Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados

- Instrumento adecuado de PCR en tiempo real (ver capítulo 6.1 Instrumentos de PCR en tiempo real)
- Sistema o kit de extracción de ácido nucleico adecuados (consulte el capítulo 8.1 Preparación de las muestras)
- Centrífuga de escritorio con rotor para tubos de reacción de 2 ml
- Centrífuga con rotor para placas de microtitulación, si se utilizan placas de reacción de 96 pocillos
- Agitador vortex
- Placas de reacción de 96 pocillos adecuadas o tubos de reacción con el material de cierre (óptico) correspondiente
- Pipetas (ajustables)
- Puntas de pipetas con filtros (desechables)
- Guantes sin polvo (desechables)

NOTA



Asegúrese de que todos los instrumentos utilizados se instalen, se calibren, se comprueben y se mantengan conforme a las instrucciones y recomendaciones del fabricante.

NOTA



Se recomienda encarecidamente utilizar el rotor de 72 pocillos con los tubos de reacción de 0,1 ml adecuados, si se utiliza el Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research) o el Rotor-Gene® Q 5/6 plex (QIAGEN).

5. Información general

El *virus del Nilo Occidental* (WNV, por sus siglas en inglés) es una especie de virus que pertenece a la familia *Flaviviridae*. El genoma del ARN de los flavivirus es monocatenario de polaridad positiva [(+)ARNss]. Los genes se encuentran todos en un solo segmento de 9 a 12 kb de longitud. El extremo de 5' de los genomas contiene secuencias específicas que se convierten en conformaciones relativamente estables. Estas secuencias, denominadas secuencias de entrada del ribosoma, permiten la síntesis de proteína y la traslación directa por ribosomas huésped.

El virus del Nilo Occidental se transmite por vectores artrópodos (diferentes mosquitos del género *Culex*, *Aedes* u *Ochlerotatus*). Puede infectar a diferentes especies, como caballos, aves y finalmente humanos. El virus se identificó por primera vez en 1937 en Uganda y, desde entonces, se ha encontrado de manera continuada en aves, caballos y humanos en África, Oriente Medio y Europa meridional. En 1999, el virus llegó a Norteamérica. Se cree que se transportó un mosquito que portaba el virus desde Israel a Nueva York. Desde entonces, se han registrado varios brotes en EE. UU.

En la mayoría de casos (70-80 %), la infección es asintomática en humanos. En los casos sintomáticos pueden observarse fiebre y otros signos y síntomas, como cefalea, artralgias, vómitos y otras afecciones poco específicas. En pocos casos, alrededor del 1 % de todas las infecciones, pueden producirse complicaciones neurológicas graves. Estos pacientes desarrollan cefaleas intensas, rigidez de nuca, coma o parálisis como consecuencia de la infección por este virus. El 10 % de estos pacientes morirán a causa de la infección por WNV.

No hay un tratamiento específico disponible para curar las infecciones por WNV. Puede administrarse medicación para reducir la fiebre y el dolor, y los casos graves recibirán tratamiento complementario y hospitalización.

El virus puede detectarse desde el día 2 o 3 hasta los días 14 o 19 siguientes a la infección, en el suero o plasma de los pacientes. Resulta interesante que la detección del ARN del virus en la orina es posible incluso después de haber

desaparecido de la sangre.

La serología es complicada, ya que los anticuerpos presentan una reacción cruzada con otros flavivirus. Pueden detectarse IgM e IgG en pacientes de 4 a 8 días después de la detección del virus en sangre. La prueba serológica más específica es la prueba de reducción de placas por neutralización, pero requiere el cultivo de virus y solo pueden desarrollarla laboratorios especializados.

La detección de ARN del virus se realiza principalmente con dos propósitos. En primer lugar, se realizan pruebas de RT-PCR en muestras de los casos que se sospeche que puedan estar infectados para realizar diagnósticos *in vitro*. Aquí, la carga vírica suele ser alta y el límite de detección de la prueba de valoración no es un factor fundamental. En segundo lugar, en las zonas en las que el WNV es endémico, el virus se ha transmitido a través de transfusiones de sangre. Por lo tanto, debe realizarse un análisis de seguridad de las donaciones de sangre y para ello, se necesitan pruebas de sensibilidad muy alta.

NOTA

i

Debido a la evolución molecular relativamente rápida de los virus de ARN, hay un riesgo inherente para cualquier sistema de análisis basado en RT-PCR de que la acumulación de mutaciones con el tiempo pueda provocar resultados de falsos negativos.

6. Descripción del producto

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 es un test diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección cualitativa del ARN específico de virus del Nilo Occidental (WNV).

El test incluye un sistema de amplificación heterólogo (control interno) para identificar una posible inhibición de RT-PCR y para confirmar la integridad de los reactivos del kit.

La tecnología de RT-PCR en tiempo real utiliza la transcriptasa inversa (RT) para convertir el ARN en ADN complementario (ADNc), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de secuencias diana específicas y sondas específicas para la detección del ADN amplificado. Las sondas están marcadas con fluorocromos (reporter) y captore de fluorescencia (quencher).

Las sondas específicas para el ARN de WNV se marcan con el fluoróforo FAM™. La sonda específica para el control interno (IC) se marca con el fluoróforo JOE™.

El uso de muestras vinculadas a colorantes distinguibles permite la detección paralela de ARN específico de WNV y del control interno en los canales de detección correspondientes del instrumento PCR en tiempo real.

La prueba consta de tres procesos en una sola prueba de valoración de tubo:

- Transcripción inversa del ARN objetivo y control interno en ADNc
- Amplificación de PCR de objetivo y control interno en ADNc
- Detección simultánea de amplicones de PCR mediante sondas marcadas con fluoróforos

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se compone de:

- Master A
- Master B
- Internal Control
- Positive Control
- Water (PCR grade)

Internal Control (IC) = Control interno

Positive Control = Control positivo

Water (PCR grade) = Agua indicada para PCR

Master A y Master B contienen todos los componentes (tampón de PCR, transcriptasa inversa, ADN-polimerasa, sal magnésica, cebadores y sondas) para permitir la transcripción inversa, la amplificación mediada por PCR y la detección de ARN específico de WNV y el Internal Control (control interno) en una configuración de reacción.

6.1 Instrumentos de PCR en tiempo real

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se ha desarrollado y validado para usarse con los siguientes instrumentos PCR en tiempo real:

- Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
- VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)
- Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

6.2 Tipos de muestras

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se ha validado para su uso con el siguiente tipo de muestra:

- Plasma humano con EDTA

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se ha validado usando el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 en el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización) para la extracción y la purificación de ácido nucleico.

7. Advertencias y precauciones

- Antes del primer uso, compruebe el producto y sus componentes para ver si están completos en cuanto a número, tipo y relleno. No utilice un producto incompleto o defectuoso, podría perjudicar el rendimiento.
- ¡No utilice otros tipos de muestras! El uso de otros tipos de muestras puede perjudicar el rendimiento del producto.
- La presencia de inhibidores de PCR (como p. ej., heparina) puede provocar falsos negativos o resultados no válidos.
- Si la muestra contiene otros patógenos distintos de WNV, puede darse competencia con la amplificación objetivo o reactividades cruzadas.
- Las condiciones de almacenamiento incorrectas pueden perjudicar el rendimiento del producto.
- La ausencia de centrifugación de los componentes del producto tras la descongelación podría provocar la contaminación de los componentes con restos de reactivos en las tapas y, como consecuencia, podría perjudicar el rendimiento del producto.
- No exceda la secuencia de congelación y descongelación ni las duraciones de manipulación especificadas en estas Instrucciones de uso.
- No utilice componentes de productos después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del componente.
- La manipulación incorrecta de los componentes del producto y las muestras puede provocar contaminación y dar lugar a unos resultados de examen IVD incorrectos.
 - No intercambie viales ni tapones de botellas, ya que puede producirse contaminación cruzada.
 - Para minimizar el riesgo de contaminación cruzada, almacene el material positivo y/o potencialmente positivo separado de los componentes del kit.
 - Utilice áreas de trabajo separadas para la preparación de las muestras, la configuración de reacción y las actividades de amplificación/detección.
 - Lleve siempre guantes desechables.

- No abra los tubos o las PCR Plates (placas PCR) después de la amplificación, para evitar la contaminación con amplicones.
- El almacenamiento de eluidos en condiciones incorrectas puede provocar la degradación de la secuencia objetivo de WNV.
- No supere el tiempo de almacenamiento de la mezcla de PCR. Esto podría perjudicar el rendimiento del producto.
- Trate siempre las muestras como si fueran infecciosas y (bio)peligrosas conforme a los procedimientos seguros de laboratorio. Si se derrama material de las muestras, utilice rápidamente un desinfectante adecuado. Manipule los materiales contaminados como si fueran biopeligrosos.
- Elimine los desechos peligrosos y biológicos solo conforme a las normativas locales y nacionales para evitar la contaminación ambiental.
- Como con cualquier test diagnóstico, los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
- Las posibles mutaciones dentro de las regiones objetivo del genoma de WNV cubiertas por los cebadores o las sondas utilizados en el kit pueden provocar fallos al detectar la presencia del patógeno.
- Si su sistema de preparación de las muestras utiliza soluciones amortiguadoras de lavado que contengan etanol, asegúrese de eliminar cualquier resto de etanol antes de la elución del ácido nucleico. El etanol es un potente inhibidor en PCR en tiempo real.
- El uso de ARN portador es crucial para la eficiencia de la extracción y para la estabilidad del ácido nucleico extraído.
- Este ensayo no debe utilizarse directamente en la muestra. Deben emplearse métodos apropiados de extracción del ácido nucleico antes de utilizar este ensayo.

8. Procedimiento

PRECAUCIÓN



La manipulación incorrecta de los componentes del producto y las muestras puede provocar contaminación y dar lugar a unos resultados de examen IVD incorrectos.

- No intercambie viales ni tapones de botellas, ya que puede producirse contaminación cruzada.

- Para minimizar el riesgo de contaminación cruzada, almacene el material positivo y/o potencialmente positivo separado de los componentes del kit.

- Utilice áreas de trabajo separadas para la preparación de las muestras, la configuración de reacción y las actividades de amplificación/detección.

- Lleve siempre guantes desechables.

- No abra los tubos o las PCR Plates (placas PCR) después de la amplificación, para evitar la contaminación con amplicones.

8.1 Preparación de las muestras

El ARN extraído es el material de partida para el kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0.

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se validó con hisopos respiratorios humanos utilizando el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización) en combinación con el kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

También pueden ser apropiados otros sistemas y kits de extracción de ácido nucleico (véase a continuación). La idoneidad del procedimiento de extracción de ácido nucleico para su uso con el WNV RT-PCR Kit 2.0 de RealStar® debe validarla el usuario.

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)
- QIASymphony® (QIAGEN)
- NucliSENS® easyMag® (bioMérieux)
- MagNA Pure 96 System (Roche)
- m2000sp (Abbott)
- Maxwell® 16 IVD Instrument (Promega)
- VERSANT® kPCR Molecular System SP (Siemens Healthcare)

Si se usa un procedimiento de preparación de la muestra basado en columna de centrifugación que incluya tampones de lavado con etanol, se recomienda encarecidamente realizar un paso de centrifugación adicional durante 10 minutos a aprox. 17 000 x g (~ 13 000 rpm), utilizando un nuevo tubo colector, antes de la elución del ácido nucleico.

Tras completarse el procedimiento de extracción, los eluidos de la Eluate Plate (placa de eluidos) sin sellar son estables a temperatura ambiente (máx. 30 °C) durante un total de 6 horas. Los eluidos en una Eluate Plate (placa de eluidos) sellada pueden almacenarse a una temperatura de 2 a 8 °C durante hasta 24 horas antes del inicio de una configuración de reacción de PCR.

PRECAUCIÓN



¡No utilice otros tipos de muestras! El uso de otros tipos de muestras puede perjudicar el rendimiento del producto.

PRECAUCIÓN



Si su sistema de preparación de pruebas utiliza soluciones amortiguadoras de lavado que contengan etanol, asegúrese de eliminar cualquier resto de etanol antes de la elución del ácido nucleico. El etanol es un potente inhibidor en PCR en tiempo real.

PRECAUCIÓN



El uso de ARN portador es crucial para la eficiencia de la extracción y para la estabilidad del ácido nucleico extraído.

PRECAUCIÓN

Trate siempre las muestras como si fueran infecciosas y (bio) peligrosas conforme a los procedimientos seguros de laboratorio. Si se derrama material de las muestras, utilice rápidamente un desinfectante adecuado. Manipule los materiales contaminados como si fueran biopeligrosos.

PRECAUCIÓN

La presencia de inhibidores de PCR (como p. ej., heparina) puede provocar falsos negativos o resultados no válidos.

PRECAUCIÓN

Este ensayo no debe utilizarse directamente en la muestra. Deben emplearse métodos apropiados de extracción del ácido nucleico antes de utilizar este ensayo.

PRECAUCIÓN

Elimine los desechos peligrosos y biológicos solo conforme a las normativas locales y nacionales para evitar la contaminación ambiental.

PRECAUCIÓN

El almacenamiento de eluidos en condiciones incorrectas puede provocar la degradación de la secuencia objetivo de WNV.

Si necesita más información o asistencia técnica en relación con el pretratamiento y la preparación de las muestras, póngase en contacto con nuestro Soporte técnico (consulte el capítulo 14. Asistencia técnica).

8.2 Preparación de la Master Mix

Todos los reactivos y muestras deben descongelarse del todo, mezclarse (pipeteando o aplicando un vortex suave) y centrifugarse brevemente antes de su uso.

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 contiene un control interno (IC) heterólogo, que puede utilizarse como control de inhibición de RT-PCR o para controlar el procedimiento de preparación de muestras (extracción de ácido nucleico) y como control de inhibición de RT-PCR.

- ▶ Si se utiliza el IC como control de inhibición de RT-PCR, pero no como control para el procedimiento de preparación de las muestras, prepare el Master Mix de acuerdo con el siguiente esquema de pipeteo:

Número de reacciones (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Internal Control (control interno)	1 µl	12 µl
Master Mix de volumen	21 µl	252 µl

- ▶ Si se utiliza el IC como control para el procedimiento de preparación de muestras y como control de inhibición de RT-PCR, añada el IC durante el procedimiento de extracción de ácido nucleico.
- ▶ Sin importar qué método o sistema se utilice para la extracción de ácido nucleico, el IC **no debe** añadirse directamente al espécimen. El IC debe añadirse siempre a la mezcla de espécimen/Lysis Buffer (tampón de lisis). El volumen del IC que debe añadirse dependerá siempre y únicamente del volumen de la elución. Representa el 10 % del volumen de la elución. Por ejemplo, si se va a eluir el ácido nucleico en 60 µl de Elution Buffer (tampón de elución) o agua, deberán añadirse 6 µl del IC por muestra a la mezcla de espécimen/Lysis Buffer (tampón de lisis).

- Si se añadió IC durante el procedimiento de preparación de las muestras, configure el Master Mix de acuerdo con el siguiente esquema de pipeteo:

Número de reacciones (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Master Mix de volumen	20 µl	240 µl

PRECAUCIÓN



La ausencia de centrifugación de los componentes del producto tras la descongelación podría provocar la contaminación de los componentes con restos de reactivos en las tapas y, como consecuencia, podría perjudicar el rendimiento del producto.

NOTA



Si se añadió el IC [Internal Control (control interno)] durante el procedimiento de preparación de las muestras, al menos el control negativo debe incluir el IC.

NOTA



Sin importar qué método o sistema se utilice para la extracción de ácido nucleico, no añada nunca el IC directamente a la muestra.

8.3 Preparación de la reacción

- ▶ Pipeta 20 µl del Master Mix en cada pocillo necesario de una placa de reacción óptica de 96 pocillos apropiada o de un tubo de reacción óptico apropiado.
- ▶ Añada 10 µl de la muestra (eluido de la extracción de ácido nucleico) o 10 µl de los controles (control positivo o negativo).

Configuración de reacción	
Master Mix	20 µl
Muestra o control	10 µl
Volumen total	30 µl

- ▶ Asegúrese de que al menos se utilicen un control positivo y uno negativo por serie.
- ▶ Mezcle a fondo las mezclas y los controles con la Master Mix pipeteando hacia arriba y hacia abajo.
- ▶ Cierre la placa de reacción de 96 pocillos con las tapas adecuadas o una película adhesiva óptica y los tubos de reacción con las tapas adecuadas.
- ▶ Centrifugue la placa de 96 pocillos en una centrífuga con un rotor de placa de microtitulación durante 30 segundos a aproximadamente 1000 x g (~3000 rpm).

Tras completarse la configuración de reacción de PCR, la PCR Mix (mezcla de PCR) es estable a temperatura ambiente (máx. 30 °C) durante 30 minutos.

PRECAUCIÓN



No supere el tiempo de almacenamiento de la mezcla de PCR. Esto podría perjudicar el rendimiento del producto.

9. Programación de los instrumentos de PCR en tiempo real

Para ver información básica en relación con la configuración y la programación de los diferentes instrumentos de PCR en tiempo real, consulte el manual de usuario del instrumento en cuestión.

Para ver instrucciones de programación detalladas sobre el uso del RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 en instrumentos PCR específicos en tiempo real, póngase en contacto con nuestro Soporte técnico (consulte el capítulo 14. Asistencia técnica).

9.1 Configuración

- Defina la siguiente configuración:

Configuración	
Volumen de reacción	30 µl
Índice de aumento	Predeterminado
Referencia pasiva	ROX™

9.2 Detectores de fluorescencia (colorantes)

- Defina los detectores de fluorescencia (colorantes):

Objetivo	Nombre del detector	Marcador	Desactivador fluorescente
ARN específico de WNV	WNV	FAM™	(Ninguno)
Internal Control (control interno)	IC	JOE™	(Ninguno)

9.3 Perfil de temperatura y detección de fluorescencia

- Defina el perfil de temperatura y la adquisición de colorantes:

	Fase	Repeti- ciones de ciclos	Adquisición	Temperatura [°C]	Tiempo [min:seg]
Transcripción inversa	Retención	1	-	55	20:00
Desnaturalización	Retención	1	-	95	2:00
Amplificación	Ciclos	45	-	95	0:15
			sí	55	0:45
			-	72	0:15

10. Análisis de datos

Para ver información básica en relación con el análisis de datos en instrumentos específicos de PCR en tiempo real, consulte el manual de usuario del instrumento en cuestión.

Para ver instrucciones detalladas sobre el análisis de los datos generados con el kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 en diferentes instrumentos PCR en tiempo real, póngase en contacto con nuestro Soporte técnico (consulte el capítulo 14. Asistencia técnica).

10.1 Validez de las series de pruebas diagnósticas

10.1.1 Serie válida de pruebas diagnósticas

Una serie de pruebas diagnósticas es **válida** si se cumplen las siguientes condiciones de control:

ID de control	Canal de detección	
	FAM™	JOE™
Control positivo	+	+/-*
Control negativo	-	+

* La presencia o ausencia de una señal en el canal JOE™ no es relevante para la validez de la serie de pruebas.

10.1.2 Serie no válida de pruebas diagnósticas

Una serie de pruebas diagnósticas es **no válida**, (i) si no se ha completado la serie o (ii) si no se cumple alguna de las condiciones de control para una serie de pruebas diagnósticas **válida**.

En el caso de una serie **no válida** de pruebas diagnósticas, repita las pruebas usando los ácidos nucleicos purificados restantes o empiece de nuevo a partir de las muestras originales.

10.2 Interpretación de los resultados

PRECAUCIÓN



Como con cualquier test diagnóstico, los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

10.2.1 Análisis cualitativo

Canal de detección		Interpretación del resultado
FAM™	JOE™	
+	+*	Se ha detectado ARN específico de WNV.
-	+	No se ha detectado ARN específico de WNV. La muestra no contiene cantidades detectables de ARN específico de WNV.
-	-	Inhibición de RT-PCR o fallo de reactivo. Repita el test con la muestra original o recoja y pruebe con una nueva muestra.

* La detección del control interno en el canal de detección JOE™ no es necesaria para resultados positivos en el canal de detección FAM™. Una carga alta de ARN de WNV en la muestra puede provocar señales reducidas o ausentes de control interno.

11. Evaluación de rendimiento

La evaluación de rendimiento analítico del RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se realizó utilizando el virus del Nilo Occidental (cadena del NY2001-6263) suministrado por ZeptoMetrix®.

11.1 Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se define como la concentración (copias/ml) de moléculas del ARN específico de WNV que se pueden detectar con un índice de positividad del 95 %. La sensibilidad analítica se determina mediante el análisis de la serie de diluciones de WNV en el plasma humano con EDTA. El material para el virus del Nilo Occidental (cadena del NY2001-6263) fue suministrado por ZeptoMetrix®.

Cada dilución se analizó en 8 repeticiones en 3 días diferentes (total n = 24 por dilución) usando combinaciones de 3 lotes de RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0, 3 lotes de AltoStar® Purification Kit 1.5 y 3 lotes de AltoStar® Internal Control 1.5. Las series se realizaron usando 3 instrumentos AltoStar® Automation System AM16 y CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System distintos.

Se combinaron los datos de todas las series y se realizó un análisis de probit para determinar el valor del 95 % del límite de detección.

Tabla 1: Resultados de RT-PCR utilizados para el cálculo de la sensibilidad analítica con respecto a la detección de ARN específico de WNV

Concentración [copias/ml]	Número de repeticiones	Número de positivos	Índice de éxito [%]
3,16E+03	24	24	100
1,00E+03	24	24	100
3,16E+02	24	24	100
1,00E+02	24	19	79
3,16E+01	24	9	38
1,00E+01	24	7	29
3,16E+00	24	1	4
1,00E+00	24	0	0

La sensibilidad analítica del kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se determinó mediante análisis de probit:

- Para la detección de ARN específico de WNV, la sensibilidad analítica es 258 copias/ml [intervalo de confianza (IC) del 95 %: 150-599 copias/ml]

11.2 Especificidad analítica

La especificidad analítica del kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se asegura mediante la selección exhaustiva de los oligonucleótidos (cebadores y sondas). Los oligonucleótidos se verificaron mediante análisis de comparación de secuencias frente a las secuencias disponibles públicamente con el fin de asegurar la detección de todos los genotipos relevantes de WNV.

La especificidad analítica del kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 con respecto a la reactividad cruzada con otros patógenos distintos al WNV se evaluó probando virus relacionados con el WNV, patógenos que provocan síntomas parecidos a los de una infección por WNV y patógenos con probabilidad de estar presentes en pacientes que sufran una infección por WNV.

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 no mostró ninguna reacción cruzada con ninguno de los siguientes patógenos:

- Virus del dengue 1
- Virus del dengue 2
- Virus del dengue 3
- Virus del dengue 4
- Virus de la hepatitis A
- Virus de la hepatitis C
- Virus de la hepatitis E
- Virus del herpes simple 1
- Virus del herpes simple 2
- Virus de la inmunodeficiencia humana 1
- Virus de la encefalitis japonesa
- Virus de la encefalitis del valle del Murray
- *Neisseria meningitidis*
- Virus de la encefalitis de San Luis
- *Streptococcus pneumoniae*
- Virus de la encefalitis por garrapatas (TBEV)
- Virus Usutu
- Virus de la fiebre amarilla
- Virus del zika

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 permite detectar el patógeno WNV de los linajes 1 y 2:

- Linaje 1 (NY99)
- Linaje 2 (Heja, B-956 Uganda, 1986)

PRECAUCIÓN



Si la muestra contiene otros patógenos distintos de WNV, puede darse competencia con la amplificación objetivo o reactividades cruzadas.

11.3 Precisión

Los datos de precisión para el RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se determinaron como variabilidad intranalítica (variabilidad dentro de un experimento), variabilidad interanalítica (variabilidad entre diferentes experimentos) y variabilidad interlote (variabilidad entre diferentes lotes de producción). Se calculó la variabilidad total combinando los 3 análisis.

Los datos de variabilidad se expresan en términos de coeficiente de variación basado en valores de ciclo de umbral (C_t). Se analizaron al menos 4 repeticiones por muestra para la variabilidad intranalítica y la variabilidad interanalítica e interlote.

Tabla 3: Datos de precisión (% de CV [valores C_t]) para muestras de plasma con EDTA con alto positivo en WNV

	Muestra con alto positivo en WNV [% de CV basado en valores C_t]
Variabilidad intranalítica	0,32 - 0,95
Variabilidad interanalítica	0,02 - 0,40
Variabilidad interlote	1,38
Variabilidad total	1,21

Todas las muestras analizadas con el triple del límite de detección (muestras de bajo positivo) se detectaron como positivas en WNV.

Tabla 4: Datos de precisión [% de CV (valores C_t)] para el Internal Control (control interno) en muestras de plasma con EDTA negativas en WNV

	Internal Control (control interno)
Variabilidad intranalítica	0,18 - 0,67
Variabilidad interanalítica	0,04 - 0,32
Variabilidad interlote	0,61
Variabilidad total	1,52

12. Limitaciones

- Se requiere el cumplimiento estricto de las instrucciones de uso para obtener unos resultados óptimos.
- El uso de este producto se limita a personal especialmente instruido y formado en las técnicas de PCR en tiempo real y en procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- Unas buenas prácticas de laboratorio son esenciales para que este ensayo tenga un rendimiento adecuado. Deben extremarse las precauciones para preservar la pureza de los componentes del kit y las configuraciones de reacción. Todos los reactivos deben supervisarse atentamente para saber si tienen impurezas y contaminación. Los reactivos sospechosos deben descartarse.
- Es necesario realizar procedimientos correctos de recolección, transporte, almacenamiento y procesamiento para que este test tenga un rendimiento óptimo.

13. Control de calidad

De acuerdo con el sistema de control de calidad con certificación ISO EN 13485 de Altona Diagnostics GmbH, cada lote del kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 se somete a pruebas con especificaciones predeterminadas para asegurar la calidad consistente del producto.

14. Asistencia técnica

Si necesita ayuda al cliente, póngase en contacto con nuestro Soporte técnico:

email: support@altona-diagnostics.com

teléfono: +49-(0)40-5480676-0

15. Bibliografía

Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise y David W. Warnock (ed). Manual of Clinical Microbiology. 10.^a edición. ASM Press, 2011.

Cohen, Jonathan, Powderly, William G. y Steven M Opal. Infectious Diseases, tercera edición. Mosby, 2010.

16. Marcas comerciales y aviso legal

AltoStar®, RealStar® (altona Diagnostics); ABI Prism® (Applied Biosystems); CFX96™ (Bio-Rad); FAM™, JOE™ (Life Technologies); LightCycler® (Roche); Maxwell® (Promega); Mx 3005P™ (Stratagene); NucliSENS®, easyMag® (bioMérieux); Rotor-Gene®, QIAamp®, QIAasymphony® (QIAGEN); VERSANT® (Siemens Healthcare); ZeptoMetrix®.

Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. usados en este documento, incluso si no están marcados específicamente como tales, no se deben considerar privados de protección legal.

El WNV RT-PCR Kit 2.0 de RealStar® es un kit de diagnóstico con marcado CE conforme a la directiva europea de diagnóstico *in vitro* 98/79/EC.

Producto sin licencia de Health Canada y no aprobado ni autorizado por la FDA.

No disponible en todos los países.

© 2020 altona Diagnostics GmbH; todos los derechos reservados.

17. Explicación de los símbolos

Símbol	Explicación
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Color del tapón
	Número de catálogo
	Contenido
	Número
	Componente
	Número mundial de artículo comercial
	Consultar instrucciones de uso
	Contiene suficiente para «n» pruebas/reacciones (rxns)
	Límite de temperatura
	Fecha de vencimiento
	Fabricante
	Precaución
	Nota
	Versión

Notas:

Notas:

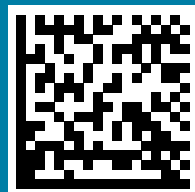
Notas:

always a drop ahead.

altona Diagnostics GmbH
Mörkenstr. 12
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0
fax +49 40 548 0676 10
e-mail info@altona-diagnostics.com

www.altona-diagnostics.com





República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: ALTONA DIAGNOSTICS ARGENTINA

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 39 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.03.22 15:00:30 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.03.22 15:00:31 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-006930-23-0

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

Expediente N° 1-0047-3110-006930-23-0

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0

Marca comercial: RealStar®

Modelos:

RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0

Indicación/es de uso:

El kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 2.0 es un test diagnóstico in vitro, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección cualitativa del ARN específico de virus del Nilo Occidental (WNV). El test incluye un

sistema de amplificación heterólogo (control interno) para identificar una posible inhibición de RT-PCR y para confirmar la integridad de los reactivos del kit.

Forma de presentación: El kit permite 96 determinaciones y está compuesto por:

- Master A: 8 viales de 60 µl/vial
- Master B: 8 viales de 180 µl/vial
- Control Interno: 1 vial de 1000 µl
- Control Positivo: 1 vial de 250 µl
- Agua indicada para PCR: 1 vial de 500 µl

Período de vida útil: 15 MESES - Condiciones de conservación: -25°C / -15°C

Nombre del fabricante:
altona Diagnostics GmbH

Lugar de elaboración:
Mörkenstrasse12, 22767 Hamburgo, Alemania.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 2436-25 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-006930-23-0

N° Identificadorio Trámite: 53748

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.03.26 17:01:27 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.03.26 17:01:29 -03:00