



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Disposición

Número:

Referencia: 1-47-3110-4600-17-2

VISTO el expediente N° 1-47-3110-4600/17-2 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOSYSTEMS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso in vitro denominados: **1) SEPSIS FLOW CHIP KIT (HS12); 2) SEPSIS FLOW CHIP KIT (HS24).**

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

Que 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.

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 el Decreto N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR 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) de los productos médicos para diagnóstico de uso in vitro denominados: **1) SEPSIS FLOW CHIP KIT (HS12); 2) SEPSIS FLOW CHIP KIT (HS24)**, de acuerdo con lo solicitado por la firma BIOSYSTEMS S.A., con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2020-17464902-APN-INPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM-626-97”, 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.- 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 CARACTERISTICOS

Nombre comercial: **1) SEPSIS FLOW CHIP KIT (HS12); 2) SEPSIS FLOW CHIP KIT (HS24).**

Indicación de uso: 1) y 2) KIT DISEÑADO PARA LA DETECCIÓN DE INFECCIONES NOSOCOMIALES EN HUMANOS BASADO EN PCR MULTIPLEX E HIBRIDACIÓN REVERSA, PARA LA DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE BACTERIAS, HONGOS Y LOS PRINCIPALES GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS, MEDIANTE TECNOLOGÍA DNA-FLOW PARA PLATAFORMAS hybriSpot, TANTO AUTOMÁTICA COMO MANUAL.

Forma de presentación: ENVASES POR 24 o 48 DETERMINACIONES, CONTENIENDO:

Reactivos para PCR múltiple:

Reactivos	24 determinaciones	48 determinaciones
-----------	-----------------------	-----------------------

Mix 1 Multiplex PCR	3 strips x 8 tubes	6 strips x 8 tubes
Mix 2 Multiplex PCR	3 strips x 8 tubes	6 strips x 8 tubes

Reactivos para hibridación reversa:

Reactivos	24 determinaciones	48 determinaciones
Hybridization Solution (Reagent A)	40 ml	80 ml
Blocking Solution (Reagent B)	10 ml	18 ml
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)	10 ml	18 ml
Washing Buffer I (Reagent D)	35 ml	70 ml
Reagent E	10 ml	18 ml
Washing Buffer II (Reagent F)	18 ml	35 ml
Sepsis Chip	24 unidades	2 x 24 unidades

Reactivos	24 determinaciones	48 determinaciones
Hybridization Solution (Reagent A)	60 ml	115 ml

Blocking Solution (Reagent B)	10 ml	18 ml
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)	10 ml	18 ml
Washing Buffer I (Reagent D)	35 ml	70 ml
Reagent E	10 ml	18 ml
Sepsis Chip	24 unidades	2 x 24 unidades

Período de vida útil y condición de conservación: DIECIOCHO (18) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8 °C.

Nombre y dirección del fabricante: VITRO SA. C/ Luis Fuentes Bejarano 60, Edificio nudo norte, local 3. 41020, Sevilla. (ESPAÑA).

Condición de Venta/Categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Expediente N° 1-47-3110-4600-17-2

AM

Sepsis Flow Chip Kit

**Detección de bacterias, hongos y
marcadores de resistencia a antibióticos
mediante PCR múltiple e hibridación
reversa**

para todas las plataformas hybriSpot

Compatible con la versión 2.2.0 de hybriSoft HSHS y posteriores, y formato liofilizado del kit.
Para compatibilidad con otras versiones por favor consulte con el fabricante / distribuidor.

REF	Ref. MAD-003936M-HS12-24	Σ	24 determinaciones
	Ref. MAD-003936M-HS12-48		48 determinaciones
	Ref. MAD-003936M-HS24-24		24 determinaciones
	Ref. MAD-003936M-HS24-48		48 determinaciones

Para uso exclusivo en diagnóstico in vitro
Directiva 98/79/CE e ISO 18113-2

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Vitro S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
Tel: +34 954 933 200. vitra@vitro.bio; www.vitro.bio



Rev.: 2019/05/31 1/36

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Contenidos

1 USO PREVISTO 3

2 PRINCIPIO DEL MÉTODO 4

3 COMPONENTES 4

3.1 Reactivos para PCR múltiple..... 4

3.2 Reactivos para hibridación reversa 5

4 MATERIAL ADICIONAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO 6

4.1 Reactivos y materiales..... 6

4.2 Equipamiento..... 6

4.3 Material adicional opcional..... 7

5 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD 7

6 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES 7

7 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA 9

7.1 Hemocultivos 9

7.2 Exudados rectales 10

7.3 Colonias bacterianas 11

7.4 Protocolo de procesamiento de muestras con medio de dilución y transporte (TDM) 11

8 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS 12

8.1 Reacción de amplificación múltiple del ADN..... 12

8.2 Hibridación reversa por Flow-through 13

9 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS PARA EL EQUIPO HS12 PCR AUTO 14

10 PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD 15

11 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS 16

12 CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO 24

12.1 Funcionamiento analítico en hybriSpot 12 (HS12) 24

12.2 Funcionamiento analítico en hybriSpot 24 28

12.3 Funcionamiento analítico en hybriSpot 12 PCR AUTO (HS12a)..... 28

12.4 Clínico..... 30

13 LIMITACIONES 33

14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES..... 34

15 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 34

16 SÍMBOLOS DE LA ETIQUETA 36

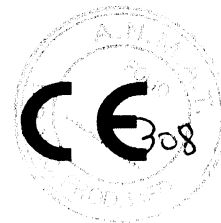
17 GLOSARIO..... 36





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (64-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°.



1 USO PREVISTO

Sepsis Flow Chip es un kit de diagnóstico in vitro de infecciones nosocomiales en humanos basado en PCR multiplex e hibridación reversa para la detección simultánea de bacterias, hongos y los principales genes de resistencia a antibióticos en un único ensayo. El sistema Sepsis Flow Chip permite la detección simultánea de alrededor de 36 especies bacterianas (*Staphylococcus Coagulasa-Negativa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Neisseria meningitidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, especies de *Enterobacteriaceae* y *Proteus spp./Morganella*), varias especies de hongos (*Candida albicans* y *Candida spp.*) y 20 marcadores de resistencia a antibióticos. Con respecto a estos, el kit detecta un gen asociado a resistencia a meticilina (*mecA*), dos genes que confieren resistencia a vancomicina (*vanA* y *vanB*), dos genes asociados a resistencia frente a antibióticos β -lactámicos (*blaSHV* y *blaCTX-M* de amplio espectro) y quince genes que confieren resistencia a carbapenemos (*kpc* alelo: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y 23, *sme* alelo: 1, 2, 3, 4 y 5, *nmc/imi* alelo: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9, *ges* alelo: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 y 26, *vim* alelo: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45 y 46, *gim* alelo: 1 y 2, *spm*, *ndm* alelo: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16, *sim*, *imp3*, 15, 19_like alelo: 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 15, 19, 20, 21, 24, 25, 28, 29, 30, 40, 41, 42 y 47, *oxa23_like* alelo: 23, 27, 49, 73, 133, 146, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171 y 225, *oxa24_like* alelo: 24, 25, 26, 40, 72, 139 y 160, *oxa48_like* alelo: 48, 162, 163 y 181, *oxa51_like* alelo: 51, 60, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 82, 83, 84, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 98, 99, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 116, 117, 128, 130, 131, 132, 138, 144, 148, 149, 150, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 195, 196, 197, 194, 200, 201, 202, 203, 206, 208 y 223, *oxa58_like* alelo: 58, 96, 97 y 164). El método se basa en la amplificación de dianas de ADN con dos reacciones de PCR multiplex y la posterior hibridación reversa sobre una membrana que contiene sondas específicas.

Organismo	Diana
<i>Staphylococcus Coagulasa-Negativa</i>	16S rDNA
<i>Staphylococcus aureus</i>	nuc
<i>Streptococcus spp.</i>	16S rDNA
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	cpsA
<i>Streptococcus agalactiae</i>	16S rDNA
<i>Streptococcus pyogenes</i>	16S rDNA
<i>Listeria monocytogenes</i>	16S rDNA
<i>Enterococcus spp.</i>	16S rDNA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ecfX
<i>Acinetobacter baumannii</i>	16S rDNA
<i>Neisseria meningitidis</i>	16S rDNA
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16S rDNA
<i>Escherichia coli</i>	16S rDNA
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	khe
<i>Serratia marcescens</i>	16S rDNA
<i>Enterobacteriaceae</i>	16S rDNA
<i>Proteus spp./Morganella</i>	16S rDNA
<i>Candida spp.</i>	18S-5.8S ITS rDNA
<i>Candida albicans</i>	18S-5.8S ITS rDNA

Tabla 1: Genes diana usados para la amplificación de bacterias y hongos.

Estado Microbiológico: Producto no estéril.

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



Vitra S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. vitra@vitro.bio; www.vitro.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.



Rev.: 2019/05/31 3/36



2 PRINCIPIO DEL MÉTODO

El kit Sepsis Flow Chip se basa en una metodología que consiste en la amplificación simultánea de al menos 36 especies bacterianas y varias especies fúngicas, además de veinte marcadores de resistencia mediante PCR múltiple seguida de hibridación en membrana con sondas de ADN específicas mediante la tecnología DNA-Flow para plataformas hybriSpot, tanto automática como manual. Los amplicones biotinilados generados tras la PCR se hibridan en membranas que contienen un array de sondas específicas para cada patógeno y marcador de resistencia, así como sondas de control de amplificación e hibridación. La tecnología DNA-Flow permite una unión muy rápida entre el producto de PCR y su sonda específica en un ambiente tridimensional poroso en contraste con la hibridación en superficie convencional. Una vez producida la unión entre los amplicones específicos y sus sondas correspondientes, la señal se visualiza mediante una reacción inmunoenzimática colorimétrica con Estreptavidina-Fosfatasa y un cromógeno (NBT-BCIP) que genera precipitados insolubles en la membrana en aquellas posiciones en las que ha habido hibridación. Los resultados son analizados automáticamente con el software hybriSoft.

3 COMPONENTES

El kit **Sepsis Flow Chip** se comercializa bajo dos formatos principales atendiendo al tipo de plataforma de hibridación que se vaya a emplear para el análisis de las muestras clínicas. Ambos formatos proporcionan todos los reactivos necesarios para la amplificación por PCR múltiple y posterior hibridación de 24 o 48 muestras clínicas. Cada formato de kit cuenta con los siguientes componentes y referencias:

3.1 Reactivos para PCR múltiple

- 24 test (MAD-003936M-P-HS-24):

Nombre	Formato	Referencia
Mix 1 Multiplex PCR	3 strips x 8 tubes	MAD-003936M-MIX1-HS
Mix 2 Multiplex PCR	3 strips x 8 tubes	MAD-003936M-MIX2-HS

Tabla 2: Reactivos suministrados en kits de 24 test para hacer la PCR múltiple (Manual y Auto).

- 48 test (MAD-003936M-P-HS-48):

Nombre	Formato	Referencia
Mix 1 Multiplex PCR	6 strips x 8 tubes	MAD-003936M-MIX1-HS
Mix 2 Multiplex PCR	6 strips x 8 tubes	MAD-003936M-MIX2-HS

Tabla 3: Reactivos suministrados en kits de 48 test para hacer la PCR múltiple (Manual y Auto).

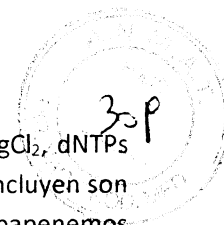
- La mezcla liofilizada **Mix 1 Multiplex PCR** contiene tampón de PCR, MgCl₂, dNTPs (U/T), agua libre de DNAsas y RNAsas y cebadores biotinilados. Los cebadores que se incluyen son los específicos para la amplificación de al menos 36 especies bacterianas (*Staphylococcus Coagulasa-Negativa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Neisseria meningitidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* especies de *Enterobacteriaceae* y *Proteus/Morganella spp.*), varias especies de hongos (*Candida albicans* y *Candida spp.*), un gen asociado a resistencia a meticilina (*mecA*), dos genes que confieren resistencia a vancomicina (*vanA* y *vanB*) y dos genes asociados a resistencia frente a antibióticos β-lactámicos (*blaSHV* y *blaCTX-M* de amplio espectro). Además, incluye los cebadores para amplificar un fragmento de DNA genómico humano usado





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (54-11) 4864 - 7776
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17603
Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:



como control interno.

- La mezcla liofilizada **Mix 2 Multiplex PCR** contiene tampón de PCR, MgCl₂, dNTPs (U/T), agua libre de DNAsas y RNAsas y cebadores biotinilados. Los cebadores que se incluyen son los específicos para la amplificación de quince genes que confieren resistencia a carbapenemos (kpc, sme, nmc/imi, ges, vim, gim, spm, ndm, sim, imp, oxa23_like, oxa24_like, oxa48_like, oxa51_like y oxa58_like). Además, incluye un ADN sintético exógeno, usado como control exógeno de amplificación, y cebadores específicos para amplificarlo.

3.2 Reactivos para hibridación reversa

- 24 test:

➤ (MAD-003936M-H-HS12-24):

Nombre	Formato	Referencia
Hybridization Solution (Reagent A)	40 ml	MAD-003930MA-HS12-24
Blocking Solution (Reagent B)	10 ml	MAD-003930MB-HS12-24
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)	10 ml	MAD-003930MC-HS12-24
Washing Buffer I (Reagent D)	35 ml	MAD-003930MD-HS12-24
Reagent E	10 ml	MAD-003930ME
Washing Buffer II (Reagent F)	18 ml	MAD-003930MF-HS12-24
Sepsis Chip (HS)	24 unidades	MAD-003936M-CH-HS-24

Tabla 4: Reactivos suministrados en kit de 24 test para realizar la hibridación (hybriSpot 12).

➤ (MAD-003936M-H-HS24-24):

Nombre	Formato	Referencia
Hybridization Solution (Reagent A)	60 ml	MAD-003930MA-HS24-24
Blocking Solution (Reagent B)	10 ml	MAD-003930MB-HS24-24
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)	10 ml	MAD-003930MC-HS24-24
Washing Buffer I (Reagent D)	35 ml	MAD-003930MD-HS24-24
Reagent E	10 ml	MAD-003930ME-HS24
Sepsis Chip (HS)	24 unidades	MAD-003936M-CH-HS-24

Tabla 5: Reactivos suministrados en kit de 24 test para realizar la hibridación (Auto: hybriSpot 24 e hybriSpot 12 PCR AUTO).

- 48 test:

➤ (MAD-003936M-H-HS12-48):

Nombre	Formato	Referencia
Hybridization Solution (Reagent A)	80 ml	MAD-003930MA-HS12-48
Blocking Solution (Reagent B)	18 ml	MAD-003930MB-HS12-48
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)	18 ml	MAD-003930MC-HS12-48
Washing Buffer I (Reagent D)	70 ml	MAD-003930MD-HS12-48
Reagent E	18 ml	MAD-003930ME-HS12-48
Washing Buffer II (Reagent F)	35 ml	MAD-003930MF-HS12-48
Sepsis Chip (HS)	2 x 24 unidades	MAD-003936M-CH-HS-24

Tabla 6: Reactivos suministrados en kit de 48 test para realizar la hibridación (hybriSpot 12).

➤ (MAD-003936M-H-HS24-48):

Nombre	Formato	Referencia
Hybridization Solution (Reagent A)	115 ml	MAD-003930MA-HS24-48
Blocking Solution (Reagent B)	18 ml	MAD-003930MB-HS24-48
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)	18 ml	MAD-003930MC-HS24-48
Washing Buffer I (Reagent D)	70 ml	MAD-003930MD-HS24-48
Reagent E	18 ml	MAD-003930ME-HS24-48
Sepsis Chip (HS)	2 x 24 unidades	MAD-003936M-CH-HS-24

Tabla 7: Reactivos suministrados en kit de 48 test para realizar la hibridación (Auto: hybriSpot 24 e hybriSpot 12 PCR AUTO).



VITRO S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local B 41020 Sevilla (Spain)
Tel: +34 954 933 200. VITRO@VITRO.BIO; www.vitro.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Rev.: 2019/05/31, 5/36
Fam. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



- **Sepsis Chip:** El kit incluye un total de 24, 48 Chips o membranas (ref: MAD-003936M-CH-HS-24) que contienen un array de sondas DNA específicas para cada de las dianas incluidos en el análisis, así como otras correspondientes a los controles de amplificación incorporados en este kit. La disposición de todas ellas sobre el Chip se puede consultar en el apartado 11 de este manual (INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS).
- **Flow Chip Hybridization Reagents:** contiene todos los reactivos necesarios para el proceso de hibridación reversa por Flow-Through.

4 MATERIAL ADICIONAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO

4.1 Reactivos y materiales

A. Reactivos comunes para plataformas tanto manual como automática:

- Guantes desechables.
- Tubos de 0,2/0,5 ml/1.5 ml libres de DNasa/RNasa.
- Puntas de pipeta con filtro libres de DNasa/RNasa.
- Para manipulación de muestras clínicas: Agua bidestilada libre de DNasa/RNasa

B. Reactivos específico (Auto, ref: MAD-003936M-HS24):

- Washing Reagent (ref: MAD-003930WSH).

4.2 Equipamiento

A. Equipamiento común para para plataformas tanto manual como automática:

- Microcentrífuga.
- Micropipetas automáticas: P1000, P200, P20 y P2.
- Software hybriSoft.

B. Equipamiento específico:

- Con Sepsis Flow Chip kit (Manual) (ref: MAD-003936M-HS12)
 - Termociclador.
 - Bloque térmico para calentar tubos de PCR (puede ser sustituido por un termociclador).
 - Placa de frio (4 °C).
 - Equipo manual para hibridación hybriSpot 12 (VIT-HS12).
 - Baño termostatzado/estufa.
- Con Sepsis Flow Chip kit (Auto: hybriSpot 24 e hybriSpot 12 PCR AUTO) (ref: MAD-003936M-HS24)
 - Equipo automático para hibridación hybriSpot 24 (VIT-HS24) o hybriSpot 12 PCR AUTO (VIT-HS12a).
 - Termociclador (no necesario para hybriSpot 12 PCR AUTO).





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (64-11) 4864 - 7775
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17603
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:



- Bloque térmico para calentar tubos de PCR (no necesario para hybriSpot 12 PCR AUTO).
- Placa de frío (4 °C).



4.3 Material adicional opcional

- Para la manipulación de muestras clínicas es posible el uso del producto Transport and Dilution Medium (TDM) (Ref: MAD-003930TDM). El protocolo de trabajo, en función del tipo de muestra de partida, se indica en el apartado 7. Preparación de la muestra.

5 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Sepsis Flow Chip kit consta de dos componentes que se suministran en cajas separadas:

- Reactivos de PCR múltiple en formato liofilizado: Envío a 2-8 °C*. Una vez recibido se deben conservar almacenados a 2-8 °C, siendo estables hasta la fecha de caducidad especificada. Los reactivos de PCR deben ser conservados en zonas libres de contaminación por ADN o productos de PCR. **Una vez abierto el envase que contiene la tira de tubos, conservar los tubos sobrantes hasta un máximo de una semana a 2-8 °C en el embalaje original.**
- Reactivos para hibridación: Enviados y almacenados entre 2-8 °C*. No congelar. Los reactivos y los Chips se deben conservar almacenados a 2-8 °C, siendo estables hasta la fecha de caducidad especificada. Consideraciones previas sobre los reactivos de hibridación:
 - El reactivo A de hibridación debe ser precalentado en un baño termostático o estufa (sólo antes de usar en equipo manual) a 51 °C previo a su uso.
 - El resto de los reactivos de hibridación deben ser usados a temperatura ambiente (20-25 °C).

*Se incluye un indicador de temperatura con el embalaje para controlar las condiciones durante el envío. En caso de que la cadena de frío se rompa se recomienda contactar con el fabricante antes de utilizar los reactivos.

6 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- **Lea las instrucciones de uso antes de utilizar este producto.**
- **Las precauciones de seguridad y eliminación de residuos vienen descritas en la Ficha de Datos de Seguridad de este producto.** Este producto está destinado únicamente para uso profesional en un laboratorio, y no como fármaco, para uso doméstico ni otros fines. La versión actual de la ficha de seguridad de este producto se puede descargar del sitio web www.vitro.bio o puede solicitarse a regulatory@vitro.bio.
- **Sepsis Flow Chip kit** utiliza como material de partida ácidos nucleicos previamente extraídos y purificados, colonias bacterianas, o bien muestras clínicas que requieren de una manipulación previa para su análisis. Se proporcionan protocolos de manipulación de los distintos tipos de muestras clínicas cuyo procesamiento ha sido validado con este kit (ver apartado 7).
- **Consideraciones generales para evitar la contaminación con producto de PCR:**

La mayor fuente de contaminación suele ser el propio producto de PCR amplificado, por lo que es



Vitro S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla Spain
 Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio

Dr. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.



Rev.: 2019/05/31 7/36

Fam. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



recomendable llevar a cabo la manipulación de los productos amplificados en una zona diferente a donde se realiza la reacción de PCR. Es recomendable trabajar en áreas diferenciadas de pre- y post-PCR en donde se realice la manipulación del ADN problema y preparación de tubos de PCR (pre-PCR) y la manipulación e hibridación de los productos amplificados (post-PCR). Estas áreas deben estar separadas físicamente y debe emplearse distinto material de laboratorio (batas, pipetas, puntas, etc.) para evitar la contaminación de las muestras con el ADN amplificado, lo que podría conducir a falsos diagnósticos positivos. El flujo de trabajo debe ir siempre en una única dirección, desde la zona de pre-PCR hasta la zona de post-PCR y nunca en dirección opuesta. Se debe evitar el flujo de material y personal desde la zona post-PCR a la zona pre-PCR. Además, a fin de evitar la contaminación con productos de PCR previos, se incluye en el kit la enzima uracil-DNA glycosylase, que degrada productos de PCR que contengan dUTP. Se recomienda incluir controles negativos de amplificación que contengan todos los reactivos manejados en el kit, desde la extracción hasta la amplificación, con excepción de la muestra de ADN, con objeto de detectar y controlar cualquier posible contaminación de los reactivos con muestras problema o con productos amplificados. La hibridación en membrana de este control debe ser negativa, marcándose solo el control de hibridación y el control exógeno de amplificación. De este modo se comprueba que no existe contaminación de ADN de pacientes y/o de ADN amplificado en la zona de pre-PCR.

- **Precaución:** el empleo de óxido de etileno para la preparación de muestras clínicas y/o la mezcla de PCR podría interferir en el correcto desarrollo de la reacción de PCR. Se recomienda evitar el uso de este compuesto para tales fines.
- **Eliminación de residuos:** La manipulación de residuos generada por el uso de los productos comercializados por Vitro S.A, S.L., debe realizarse de acuerdo con la legislación vigente en el país en el que estos productos sean usados. Como referencia, la siguiente tabla indica la clasificación de los residuos generados por este kit de acuerdo con la legislación europea, específicamente de acuerdo con la *decisión de la comisión europea del 18 de diciembre de 2014* enmienda de la *decisión 2000/532/CE* sobre la lista de residuos conforme a la *directiva 2008/98/CE* del parlamento europeo y del consejo:

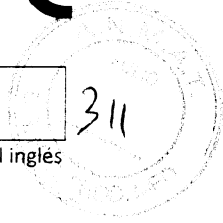
RESIDUOS POTENCIALES GENERADOS TRAS EL USO DE ESTE PRODUCTO	CÓDIGO ELW*	TIPO DE RESIDUO DE ACUERDO A ELW
1. Basura/Residuos generados a partir de los reactivos de hibridación 2. Desecho de Residuos líquidos ("Residuos" en los equipos HS12 y HS24)	161001	"Residuos acuosos líquidos que contienen sustancias peligrosas" después de añadir un 10% del volumen total de un agente desinfectante. Si la desinfección no es llevada a cabo, estos residuos deben considerarse como "residuos cuyo almacenamiento y eliminación es sometida a requisitos especiales a fin de prevenir infección"
3. Chips empleados 4. Material perecedero (tubos, puntas, papel de aluminio, etc.) 5. Cualquier elemento que haya estado en contacto con ADN	180103	"Residuos cuyo almacenamiento y eliminación es sometida a requisitos especiales a fin de prevenir infección"
6. Contenedor para reactivos usados clasificados como peligrosos (de acuerdo a la Ficha de Datos de	150110	"Envases que contienen residuos o contaminados por sustancias peligrosas"





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
Av. Dorrego 673 (C14 14CKB)
TEL: (54-11) 4864 - 7776
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:



Seguridad)		
------------	--	--

Tabla 8: Clasificación de residuos generados por este kit de acuerdo con la legislación europea. *ELW: Acrónimo del inglés European Legislation of Waste.

Nota: Esta clasificación se incluye como pauta general de actuación, estando bajo la responsabilidad final del usuario el cumplimiento de todas las regulaciones locales, regionales y nacionales sobre la eliminación de este tipo de materiales.

7 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

7.1 Hemocultivos

El kit Sepsis Flow Chip ha sido diseñado y validado para su uso en **PCR directa con muestras de hemocultivos diluidas**. La dilución recomendada de forma rutinaria para procesar hemocultivos de adultos es 1:100.

Procedimiento:

- 7.1.1 Agitar bien el frasco de hemocultivo hasta obtener una mezcla homogénea, tomar un volumen de 100 µl y pasar a un tubo eppendorf.
- 7.1.2 Diluir el hemocultivo en **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa** en un volumen final de 1 ml:
 - 1:100: 10 µl de hemocultivo + 990 µl de **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa**, agitar en vortex.
- 7.1.3 Usar 30 µl de muestra para la Mix1 de PCR y otros 30 µl para la Mix2 de PCR, previamente homogeneizada.
- 7.1.4 Realizar la amplificación siguiendo las instrucciones descritas en el apartado 8.1.

Si se observara inhibición de la PCR se recomienda repetir usando como muestra de partida una dilución 1:1000 del hemocultivo diluido previamente (100 µl de hemocultivo dil:100 + 900 µl de **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa**, agitar en vortex). Usar 30 µl de muestra para la Mix1 de PCR y otros 30 µl para la Mix2 de PCR, previamente homogeneizada.

Cuando se trabaja con hemocultivos pediátricos la dilución recomendada de forma rutinaria es 1:1000

- 7.1.5 Agitar bien el frasco de hemocultivo hasta obtener una mezcla homogénea, tomar un volumen de 100 µl y pasar a un tubo eppendorf.
- 7.1.6 Diluir el hemocultivo 1:100 en **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa** en un volumen final de 1 ml:
 - 1:100: 10 µl de hemocultivo + 990 µl de **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa**, agitar en vortex.
- 7.1.7 Diluir 1:10 el hemocultivo anteriormente diluido 1:100 en agua bidestilada libre de DNasa/RNasa en un volumen final de 1 ml:
 - 1:10: 100 µl de hemocultivo 1:100 + 900 µl de **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa**, agitar en vortex.
- 7.1.8 Usar 30 µl de muestra para la Mix1 de PCR y otros 30 µl para la Mix2 de PCR, previamente homogeneizada.



Vitra S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
Tel: +34 954 933 200. vitra@vitra.bio; www.vitra.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BIO SYSTEMS S.A.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Rev.: 2019/05/31 9/36



NOTA: Si los hemocultivos no van a ser analizados en el momento es posible almacenar una alícuota de la dilución 1:100 a 4 °C durante un máximo de dos días o a -20 °C durante al menos tres meses. Tras descongelar la alícuota se recomienda agitar para homogeneizar la muestra.

Los siguientes termocicladores han sido validados con el kit Sepsis Flow Chip:

- Veriti 96 (Applied Biosystems)
- GeneAMP® PCR System 9.700 Thermal Cyclers (Applied Biosystems)
- Mastercycler® personal (Eppendorf)

El kit Sepsis Flow Chip funciona correctamente con los siguientes medios de hemocultivo:

- BD BACTEC™ Plus Aerobic/F y Plus Anaerobic/F Medium (Becton Dickinson)
- BD BACTEC Peds Plus™/F Medium Bactec (Becton Dickinson)
- BacT/ALERT® FA Plus Aerobic y FN Plus Anaerobic (bioMérieux)
- BacT/ALERT® PF Plus (bioMérieux)

7.2 Exudados rectales

Sepsis Flow Chip se ha validado para su uso en **PCR directa partiendo de suspensiones de exudados rectales** sin necesidad de extraer el ADN. El protocolo recomendado para el procesamiento de las torundas es el siguiente:

- 7.2.1 Colocar la torunda en 0.5 ml de **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa**.
- 7.2.2 Agitar la torunda dentro del tubo para que las células se dispersen en el líquido.
- 7.2.3 Diluir la suspensión obtenida 1:50 en **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa** (con esta dilución se consigue reducir la concentración de posibles inhibidores presentes en este tipo de muestras): 10 µl de muestra + 490 µl de **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa**, agitar en vortex.
- 7.2.4 Añadir 30 µl de esta dilución para la Mix1 de PCR y otros 30 µl para la Mix2 de PCR, previamente homogeneizada.
- 7.2.5 Realizar la amplificación siguiendo las instrucciones descritas en el apartado 8.1.

En el caso de que se trabaje con torundas con medio de transporte se recomienda agitar la torunda manualmente o con vórtex en el propio medio de transporte durante unos segundos y proceder de la misma manera que para torundas secas a partir del punto 7.2.3.

*NOTA: Si las torundas no van a ser analizados en el momento es posible almacenarlas congeladas a -20 °C durante al menos tres meses. Tras descongelar añadir los 0.5 ml de **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa** y homogeneizar la muestra previamente a su dilución. Las muestras diluidas pueden ser almacenadas a 4 °C durante un máximo de dos días o a -20 °C durante al menos tres meses. Si tras diluir 1:50 quedaran inhibidores en la muestra, se recomienda diluir 1:2 a partir de la dilución 1:50 o purificar el ADN a partir de la suspensión inicial (0.5 ml).*

El kit también se puede usar a partir de **ADN purificado de exudados rectales**. Se ha validado con los siguientes sistemas de extracción:

- NucliSENS® easyMag® (bioMérieux S.A.)
- MagNa Pure (Roche)
- Chelex® (Bio-Rad)



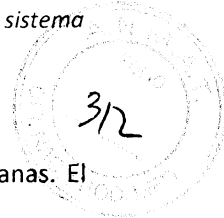


master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (54-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:



NOTA: El sistema no ha sido validado con otros sistemas de extracción de ADN, por tanto, si se emplea otro sistema de purificación diferente éste debe verificarse previamente.



7.3 Colonias bacterianas

El kit Sepsis Flow Chip ha sido validado para su uso partiendo directamente de colonias bacterianas. El protocolo recomendado para ello es el siguiente:

- 7.3.1 Tomar una pequeña cantidad de la colonia con asa estéril.
- 7.3.2 Resuspender cada muestra en 500 µl de **agua bidestilada libre de DNasa/RNasa**.
- 7.3.3 Agitar vigorosamente en vórtex hasta obtener una suspensión celular homogénea.
- 7.3.4 Añadir 30 µl de esta dilución, previamente homogeneizada, para la Mix1 de PCR y otros 30 µl para la Mix2 de PCR, previamente homogeneizada.
- 7.3.5 Realizar la amplificación siguiendo las instrucciones descritas en el apartado 8.1.

Los hemocultivos, exudados rectales y colonias bacterianas se deben tratar como posibles agentes infecciosos. Las directrices para la manipulación de este tipo de muestras se pueden consultar en las publicaciones del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de EEUU (CDC). Todos los materiales peligrosos o biológicamente contaminados se deben desechar de forma segura y aceptable según las directrices de su institución.

7.4 Protocolo de procesamiento de muestras con medio de dilución y transporte (TDM)

Opcionalmente, es posible usar el medio Transport & Dilution Medium TDM (Ref: MAD-003930TDM) para el procesamiento de los diferentes tipos de muestras clínicas descritas en los apartados anteriores. A continuación, se muestra una tabla donde describen los pasos a seguir para el procesamiento de muestras con este reactivo, en función del tipo de muestra de partida (tabla 9).

MUESTRA DE PARTIDA	FORMATO	PROTOCOLO PROCESAMIENTO DE MUESTRA CON REACTIVO TRANSPORT AND DILUTION MEDIUM (TDM) (Ref: MAD-003930TDM)
Hemocultivos	Medio aerobio y medio anaerobio	1. Agitar bien el frasco de hemocultivo hasta obtener una mezcla homogénea. 2. Tomar un volumen de 10 µl del hemocultivo y añadirlo a uno de los viales con 900 µl de medio TDM. 3. Utilizar 30 µl de esta muestra para la Mix1 de PCR y otros 30 µl para la Mix2, previamente homogeneizada, como molde para realizar la amplificación.
Exudados rectales	Torunda/hisopo sin medio de transporte	1. Colocar la torunda en uno de los viales con 900 µl de medio de dilución y transporte pre-alicuoteado (TDM). 2. Agitar la torunda dentro del tubo para que las células se dispersen en el líquido. 3. Tomar un volumen de 35 µl de esta muestra y añadirlo a un nuevo vial de medio TDM. 4. Agitar la dilución resultante en vortex y utilizar 30 µl de esta muestra para la Mix1 de PCR y otros 30 µl para la Mix2, como molde para realizar la amplificación.



VITRO S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. viro@viro.bio; www.viro.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



Rev.: 2019/05/31 11/36

	Torunda/hisopo con medio de transporte	<ol style="list-style-type: none"> 1. Agitar la torunda manualmente o con vórtex en el propio medio de transporte durante unos segundos. 2. Añadir 18 µl de muestra a uno de los viales con 900 µl de medio TDM. 3. Usar 30 µl de esta dilución para la Mix1 de PCR y otros 30 µl para la Mix2, previamente homogeneizada, para la PCR.
--	--	--

Tabla 9. Protocolos para el procesamiento de muestras usando el reactivo de dilución y transporte TDM.

8 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

8.1 Reacción de amplificación múltiple del ADN

La reacción de PCR se lleva a cabo en un volumen final de 30 µl en tiras de tubos de PCR de 0.2 mL que contienen la mezcla de reacción de PCR liofilizada.

El procedimiento es el siguiente:

- Tomar un tubo de la Mix1 y otro tubo de la Mix2 Multiplex PCR que contienen las mezclas de PCR liofilizada por cada muestra a analizar.
- Añadir hasta 30 µl de muestra en cada tubo siguiendo el protocolo recomendado en apartado 7.
- Homogenizar la mezcla mediante pipeteo y centrifugar durante unos segundos.
- Si el número de muestras a analizar es inferior o superior a ocho, se pueden separar de la tira los tubos que sean necesarios sin tener que emplear tiras completas. El resto de la tira de tubos liofilizados que no se vaya a usar en el momento debe ser almacenada durante un máximo de 1 semana a 4 °C en el embalaje original.
- Colocar los tubos en el termociclador y programar las siguientes condiciones de amplificación:

PROGRAMA DE AMPLIFICACIÓN EN TERMOCICLADOR

1 ciclo	25°C	10 min
1 ciclo	94°C	5 min
40 ciclos	94°C	30 s
	55°C	45 s
	72°C	1 min
1 ciclo	72°C	7 min
	8°C	∞

Tabla 10: Programa de PCR.

7. Si no se va a proceder con la hibridación directamente, se pueden almacenar los tubos con el producto amplificado en la zona de post-PCR a una temperatura de 8-10 °C durante 1-2 días. Para almacenarlos durante un periodo mayor de tiempo se recomienda hacerlo a -20 °C.



master diagnostica

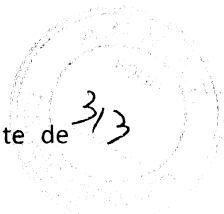
Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (54-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:



8.2 Hibridación reversa por Flow-through

Todos los reactivos se suministran en formato "listo para uso".

Los Chips son de un solo uso. Se deben manejar con guantes y alejados de cualquier fuente de contaminación.



Atendiendo al tipo de kit con el que se esté trabajando se procederá de la siguiente manera:

A. Para Sepsis Flow Chip kit (Manual, ref: MAD-003936M-HS12):

Todo el proceso de hibridación se realiza de forma semiautomática en hybriSpot (HS12) siguiendo las instrucciones proporcionadas por el *wizard* del equipo. La gestión de las muestras, la captura de las imágenes y el análisis e informe de los resultados se realizan a través del software hybriSoft.

Nota: Configurar el instrumento siguiendo las instrucciones del manual de usuario (proporcionadas con el instrumento).

Antes de comenzar el proceso de hibridación realizar los siguientes pasos:

1. Precalear el **Reactivo A a 51° C (Solución de Hibridación)** durante al menos **20 min** en un baño termostatzado.
2. Encender el equipo HS12 y fijar la temperatura a 51° C.
3. Para cada muestra mezclar el producto de PCR de la Mix1 con el producto de PCR correspondiente de la Mix2. Desnaturalizar la mezcla de productos de PCR calentando a 95°C durante 8-10 min (en termociclador) y enfriar rápidamente en hielo durante al menos 2 min.
4. Colocar un **Sepsis Chip** para cada una de las muestras objeto de análisis sobre los pedestales que incluye la cámara de reacción del equipo HS12.
5. Seguir las instrucciones dadas en el manual del equipo HS12 para llevar a cabo la introducción de los datos de las muestras, la captura de imágenes y el análisis de resultados.

PROTOCOLO DE HIBRIDACIÓN:

- a) Añadir **300 µl de reactivo A (Solución de Hibridación)** precalentada a **51°C** durante al menos 20 minutos e incubar durante al menos **2 min** a **51°C**.
- b) Eliminar el reactivo A activando la bomba de vacío.
- c) Añadir **50 µl** correspondientes a la mezcla de los productos de PCR de la Mix 1 y Mix2 (previamente desnaturalizadas y mantenidas en hielo) a **230 µl de reactivo A (Solución de Hibridación)** (51°C) y dispensar la mezcla sobre el Sepsis Chip-HS correspondiente.
- d) Incubar a **51°C** durante **8 min**.
- e) Activar la bomba para eliminar los productos de PCR (asegurarse que la bomba está activa al menos 30 s).
- f) Lavar **3x 300 µl** con **reactivo A** (51°C).
- g) **Fijar la temperatura en 29°C**.
- h) Bloquear las membranas durante al menos **5 min** con **300 µl de reactivo B (Solución de Bloqueo)**.
- i) Cuando la temperatura llegue a **29°C** activar la bomba para eliminar el reactivo B.



VITRO S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. vitro.vitro.bio; www.vitro.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 Biosystems S.A.



Rev.: 2019/05/31 13/36
 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



- j) Añadir 300 µl de reactivo C (Complejo estreptavidina-fosfatasa alcalina) e incubar durante 5 min a 29°C.
- k) Activar la bomba para eliminar el reactivo.
- l) Fijar la temperatura en 36°C.
- m) Lavar las membranas 4x 300 µl con reactivo D (Solución de lavado I).
- n) Revelar las membranas añadiendo 300 µl de reactivo E (Solución de revelado) e incubar 8 min a 36°C.
- o) Activar la bomba para eliminar el reactivo E.
- p) Lavar las membranas con 2x 300 µl con reactivo F (Solución de lavado II).
- q) Captura de imágenes, análisis e informe de resultados siguiendo instrucciones del manual de usuario HS12.

B. Para Sepsis Flow Chip kit (Auto, ref: MAD-003936M-HS24) en equipo HS24:

Todo el proceso de hibridación se realiza de forma automática en hybriSpot 24 (HS24). La gestión de las muestras, la captura de las imágenes y el análisis e informe de los resultados se realizan a través del software hybriSoft.

Antes de comenzar el proceso de hibridación realizar los siguientes pasos:

1. **Configurar el instrumento siguiendo las instrucciones del manual de usuario (proporcionadas con el equipo).**
2. Desnaturalizar los productos de PCR calentando a 95 °C durante 8-10 min en un termociclador o bloque térmico y enfriar rápidamente en hielo durante al menos 2 min.
3. Seguir las instrucciones dadas en el manual de usuario del equipo para llevar a cabo la introducción de los datos de las muestras.
4. Disponer las muestras amplificadas previamente desnaturalizadas, los Chips de Sepsis y los reactivos en sus correspondientes posiciones del hybriSpot 24.
5. Una vez que han sido colocados correctamente en el equipo todos los reactivos de hibridación, muestras y Chips dar al botón de Iniciar, en la ventana de hS Control, para comenzar el protocolo.

9 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS PARA EL EQUIPO HS12 PCR AUTO

Los procesos de amplificación por PCR e hibridación se realizan de forma automática en la plataforma HS12 PCR AUTO.

El procesamiento de la muestra, la captura de imágenes y el análisis de los resultados se lleva a cabo mediante el software hybriSoft.

Antes de comenzar el proceso de amplificación e hibridación realizar los siguientes pasos:

1. **Configurar el instrumento siguiendo las instrucciones del manual de usuario (proporcionadas con el equipo).**
2. Tomar un tubo de la Mix1 y un tubo de la Mix2 que contiene la mezcla de PCR liofilizada para cada muestra a analizar.
3. Añadir hasta 30 µl de muestra en cada tubo siguiendo el protocolo recomendado en apartado 8.1.
4. Homogenizar la mezcla mediante pipeteo y centrifugar durante unos segundos.



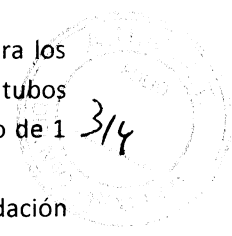


master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
Av. Domingo 673 (C1414CKB)
TEL: (64-11) 4864 - 7776
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:



- Si el número de muestras a analizar es inferior o superior a 8, se pueden separar de la tira los tubos que sean necesarios sin tener que emplear tiras completas. El resto de la tira de tubos liofilizados que no se vaya a usar en el momento debe ser almacenada durante un máximo de 1 semana a 4 °C en el embalaje original.
- Seguir sus instrucciones del manual para colocar las tiras de tubos, chips y reactivos de hibridación en el instrumento e iniciar el proceso.



10 PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

El kit Sepsis Flow Chip contiene varios controles internos para controlar la calidad de los resultados.

SPOTS	CONTROL	POSICIÓN	INTERPRETACIÓN
B	Control hibridación	1A-1B-2K-6F-10A	5 posiciones son correctas
CI	Control de amplificación exógeno	1C-6G	0, 1 o 2 posiciones son correctas
BG	Control de amplificación endógeno	1D-6H	0, 1 o 2 posiciones son correctas

Tabla 11: Sondas control incluidas en Sepsis Chip.

Control de hibridación: Tras el revelado de las membranas debe aparecer una señal intensa en las cinco posiciones de control de hibridación (B) que sirve como control de calidad. Esta señal indica que los reactivos de hibridación y revelado han funcionado correctamente. Si no aparece señal indicará que ha habido un fallo durante el proceso de hibridación o que algún reactivo no se ha usado correctamente. Además, esta señal permite que el software pueda orientar correctamente el panel de sondas para su posterior análisis.

Control de amplificación exógeno (CI): sonda para la detección de ADN sintético incluido en la mezcla de PCR. Este ADN se co-amplificará junto con el material genético de la muestra. Dos señales positivas en el Control de amplificación exógeno (CI) indicarán que la reacción de PCR ha funcionado correctamente. Un resultado negativo en este control no invalida el resultado de la técnica si el control endógeno ha amplificado correctamente y/o la muestra ha sido positiva para alguna de las dianas incluidas en el panel.

Control de amplificación endógeno (BG): sonda para la detección de ADN del gen de la beta-globina humana que es co-amplificado durante la PCR. Todas las muestras donde el ADN problema se haya amplificado correctamente tendrán una señal positiva en el Control de amplificación endógeno (BG). Esta señal es indicativa de la calidad/cantidad del ADN empleado en la amplificación. Una señal positiva indica que la amplificación ha funcionado correctamente y que la calidad y cantidad del ADN empleado para ello han sido óptimas. La ausencia de señal para este control nos indica fallos durante la amplificación, baja calidad/ cantidad del ADN utilizado en la amplificación o ausencia de DNA humano en la amplificación. Este último caso es posible que ocurra cuando el volumen de sangre en el hemocultivo es demasiado bajo y teniendo en cuenta la dilución que se le hace a la muestra para la PCR. No obstante, un resultado negativo en este control no invalida el resultado de la técnica si el control exógeno ha amplificado correctamente y/o la muestra ha sido positiva para alguno de las dianas incluidas en el panel.

Las muestras que sean positivas para alguno de los patógenos/marcadores de resistencias incluidos en el kit deben dar señal para algunas de las sondas específicas. Además, deben aparecer las cinco señales de control de hibridación (B), dos señales de Control de amplificación exógeno (CI) y dos señales de Control de amplificación endógeno (BG) (siempre que la muestra contenga ADN humano). En el caso de que no



Vitro S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio

Dra. MARIANA VILAPÉREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Rev.: 2019/05/31 15/36
Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



aparezcan señales para los controles de amplificación, pero sí para los patógenos/marcadores de resistencias se incluye en el informe un mensaje de *ausencia de ADN humano/presencia de inhibidores de la PCR*. En este caso el usuario debería verificar la calidad de las muestras antes de validar los resultados.

Cuando las muestras sean negativas para todos los patógenos/marcadores de resistencias incluidos en el kit presentarán las cinco señales positivas para el control de hibridación (B) dos señales para el Control de amplificación exógeno (CI). Las señales de Control de amplificación endógeno (BG) aparecerán además si la muestra analizada contiene ADN humano.

El usuario es responsable de determinar los procedimientos de control de calidad apropiados para su laboratorio y cumplir con la reglamentación aplicable.

11 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

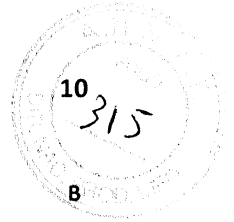
La interpretación de resultados se realiza de forma automática mediante el software de análisis hybriSoft. En el siguiente esquema se muestra la disposición de las sondas en el Chip de Sepsis:





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (54-11) 4864 - 7775
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:



	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	B		LIS	kpc	spm		ECOLI	vanB	
B	B	ABAU	ENTEROC	sme	ndm		ENTEROB	vanA	ges oxa23
C	Cl	SMAR/ KLEB	PAER	nmc/ imi	sim			mecA	vim oxa24
D		SAGAL	KLEB	SPYOG	imp	SMALTO	CALB		gim oxa48
E		STAPHYL	STREP	blaSHV		CAND		PROT/ MOR	kpc oxa51
F	SPNEU	SA	NEIS	blaCTX		B	ABAU	LIS	spm oxa58
G		ECOLI	PROT/ MOR	ges	oxa23	Cl	SMAR/ KLEB	ENTEROC	sme ndm
H	SMALTO	ENTEROB		vim	oxa24	BG	SAGAL	PAER	nmc/ imi sim
I	CAND		mecA	gim	oxa48		STAPHYL	KLEB	SPYOG imp
J		CALB	vanA		oxa51	SPNEU	SA	STREP	blaSHV
K		B	vanB		oxa58			NEIS	blaCTX

Figura 1: Esquema de la disposición de sondas sobre el array. Se incluyen las sondas específicas para los patógenos y genes de resistencia de estudio y aquellas sondas empleadas como controles de amplificación e hibridación. Las coordenadas de cada una de ellas también quedan indicadas.

"B": control de hibridación

"Cl": Control de amplificación exógeno

"BG": Control de amplificación endógeno (fragmento β-Globina humana)

"X": Sondas específicas para cada bacteria/hongo/marcador de resistencia

Todas las sondas están duplicadas para garantizar la fiabilidad en el análisis automático de los resultados. El control de hibridación (B) está repetido en 5 posiciones y permite que el software pueda orientar correctamente el panel de sondas para su posterior análisis.



Vitro S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
Tel: +34 954 933 200. vitro.vitro.bio; www.vitro.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Rev.: 2019/05/31 17/36
Fam. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



En la siguiente tabla (Tabla 12) se muestran tipo de sondas empleadas y posiciones en las que éstas han sido espoteadas sobre el Chip de Sepsis. Igualmente se indican los posibles resultados obtenidos y la interpretación de los resultados:

Resultados esperados (Organismos/Resistencia)	Sonda ID	Sonda/posiciones (columna-fila)			
		Sonda	B	CI	BG
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	SPNEU	1F-6J	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Streptococcus pyogenes</i>	SPYOG	4D-9I	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	SMALTO	1H-6D	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Candida spp.</i>	CAND	1I-6E	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ABAU	2B-7F	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Serratia marcescens</i>	SMAR/KLEB	2C-7G	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SMAR/KLEB	2C-7G-3D-8I	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KLEB	3D-8I	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Streptococcus agalactiae</i>	SAGAL	2D-7H	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Coagulase-negative staphylococci</i>	STAPHYL	2E-7I	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Staphylococcus aureus</i>	SA	2F-7J	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Escherichia coli</i> ¹	ECOLI	2G-7A	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Enterobacteria</i>	ENTEROB	2H-7B	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Candida albicans</i>	CALB	2J-7D	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Listeria monocytogenes</i>	LIS	3A-8F	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Enterococcus</i>	ENTEROC	3B-8G	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PAER	3C-8h	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Streptococcus spp.</i>	STREP	3E-8J	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Neisseria meningitidis</i>	NEIS	3F-8K	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Proteus spp.</i>	PROT/MOR	3G-8E	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
<i>Morganella morganii</i>	PROT/MOR	3G-8E-2H-7B	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
GEN DE RESISTENCIA A METICILINA mecA	mecA	3I-8C	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
GEN DE RESISTENCIA A VANCOMICINA vanA	vanA	3J-8B	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
GEN DE RESISTENCIA A VANCOMICINA vanB	vanB	3K-8A	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE A KPC	kpc	4A-9E	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE A SME	sme	4B-9G	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE A NMC/IMI	nmc/imi	4C-9H	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
β-LACTAMASA SHV	blaSHV	4E-9J	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
β-LACTAMASA DE AMPLIO ESPECTRO CTX-M	blaCTX	4F-9K	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (64-11) 4864 - 7776
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:



CARBAPENEMASA CLASE A GES	ges	4G-9B	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE B VIM	vim	4H-9C	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE B GIM	gim	4I-9D	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE B SPM	spm	5A-9F	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE B NDM	ndm	5B-10G	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE B SIM	sim	5C-10H	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE B IMP3, 15, 19_like	imp3	5D-10I	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE D OXA23	oxa23	5G-10B	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE D OXA24	oxa24	5H-10C	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CARBAPENEMASA CLASE D OXA48	oxa48	5I-10D	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CLASS D CARBAPENEMASE OXA51	oxa51	5J-10E	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
CLASS D CARBAPENEMASE OXA58	oxa58	5K-10F	1A-1B-2K-6F-10A	-- / 1C-6G	-- / 1D-6H
RESULTADOS NO VÁLIDOS (Nota: Ausencia de control de ADN humano. Ausencia de control exogeno)	--	--	1A-1B-2K-6F-10A	--	--
SEP NEGATIVO (Nota: Ausencia de control de ADN humano)	--	--	1A-1B-2K-6F-10A	1C-6G	--
Imagen no disponible/Imagen defectuosa/Error de hibridación	--	--	--	--	--

Tabla 12: Posición de las sondas en el Chip de Sepsis e interpretación de los resultados.

¹ Sepsis Flow CHIP kit no permite distinguir *Escherichia coli* de *Shigella* spp. Cuando un paciente esté bajo sospecha clínica y se obtenga un resultado positivo para *E. coli*, hay que contemplar la posibilidad de que sea una infección por *Shigella*.

Otros resultados posibles:

1. Cuando una muestra es positiva para *S. pneumoniae* pueden aparecer dos sondas positivas en el Chip, SPNEU: sonda específica para *S. pneumoniae* y STREP: sonda genérica para especies del género *Streptococcus*. No obstante, en estos casos no podemos descartar que en la muestra exista una coinfección de *S. pneumoniae* con otro *Streptococcus* spp.
2. Cuando una muestra es positiva para *S. agalactiae* pueden aparecer dos sondas positivas en el Chip, SAGAL: sonda específica para *S. agalactiae* y STREP: sonda genérica para especies del género *Streptococcus*. No obstante, en estos casos no podemos descartar que en la muestra exista una coinfección de *S. agalactiae* con otro *Streptococcus* spp.
3. Cuando una muestra es positiva para *S. aureus* pueden aparecer dos sondas positivas en el Chip, SA: sonda específica para *S. aureus* y STAPHYL: sonda genérica para especies del género *Staphylococcus*. No obstante, en estos casos no podemos descartar que en la muestra exista una coinfección de *S. aureus* con otro *Staphylococcus* spp.
4. Cuando en el Chip aparezca una señal positiva para la sonda STAPHYL sola, mecA sola o ambas sondas la interpretación más probable es *Staphylococcus* coagulasa negativa.
5. Hasta el momento el gen de resistencia oxa51 sólo ha sido detectado en *A. baumannii*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. En el caso de *Acinetobacter baumannii* este gen tiene localización cromosómica mientras que en *E. coli* y *P. aeruginosa* la resistencia se encuentra en plásmidos. Cuando una muestra es positiva para *A. baumannii* pueden aparecer dos sondas positivas en el Chip, ABAU: sonda específica para *A. baumannii* y oxa51: sonda específica para oxa51. Se han descrito mutaciones en la región del 16S en la que se ha diseñado la sonda específica ABAU, por lo tanto, si



Vitro S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local B 41020 Sevilla (Spain)
Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



en el Chip sólo se observa una señal positiva para *oxa51*, sin obtener señales positivas para las sondas específicas de *A. baumannii*, *E. coli* o *P. aeruginosa*, la interpretación más probable es *Acinetobacter baumannii*. En este caso se recomienda identificar el patógeno mediante otro método.

6. Cuando una muestra es positiva para *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. marcescens* o *Morganella morganii* en el Chip aparecerán dos sondas positivas: 1) la sonda específica para cada bacteria (KLEB, ECOLI, SMAR/KLEB, PROT/MOR) y 2) la sonda genérica para Enterobacteriaceae (ENTEROB). Ya que la sonda ENTEROB ha sido validada para detectar otras Enterobacterias como *Citrobacter*, *Salmonella*, *K. oxytoca* y *Enterobacter*, en estos casos no podemos descartar que en una muestra positiva para *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. marcescens* o *Morganella morganii* exista una coinfección con otra Enterobacteria que sea reconocida por la sonda ENTEROB.
7. La sonda PROT/MOR detecta *Proteus mirabilis* y *Morganella morganii*. La forma de distinguir un patógeno de otro es que en una muestra que presente uno solo de ellos *Morganella morganii* también dará una señal positiva para la sonda ENTEROB mientras que *Proteus mirabilis* no. No obstante, no se podría distinguir entre una muestra positiva para *Morganella morganii* y otra que presente una coinfección de *Proteus* y otra Enterobacteria que sea reconocida por la sonda ENTEROB.
8. La sonda SMAR/KLEB detecta *K. pneumoniae* y *S. marcescens*. La forma de distinguir un patógeno de otro es que en una muestra que presente uno solo de ellos *K. pneumoniae* también dará una señal positiva para la sonda específica de *K. pneumoniae* (KLEB) mientras que *S. marcescens* no. Sin embargo, no se podría diferenciar entre una muestra que presenta una infección con *K. pneumoniae* y otra que presente una coinfección con *K. pneumoniae* y *S. marcescens*.
9. La β -lactamasa de espectro limitado SHV-1 se encuentra en cepas de *K. pneumoniae* con una alta frecuencia (entre el 80-90%). Por este motivo normalmente cuando una muestra es positiva para *K. pneumoniae* también es positiva para el gen *shv*. En dicho caso la detección de SHV no indicaría necesariamente una evidencia fenotípica de producción de β -lactamasa de espectro extendido.
10. Se ha descrito la existencia de cantidades trazas de ADN microbiano en las Taq DNA polimerasas. Debido a que el método de detección presenta una alta sensibilidad a veces podría observarse señales débiles en el Chip en la sonda genérica para Enterobacteriaceae y la sonda para *P. aeruginosa* (PAER). También podrían aparecer señales débiles en las sondas para *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.* probablemente causada por contaminación de muestras, materiales o reactivos con dichas bacterias durante su manipulación.

Normalmente las bacteriemias son causadas por un único patógeno. En ocasiones es posible detectar dos o tres microorganismos en muestras de hemocultivos en cuyo caso uno de estos microorganismos es el causante de la infección y el otro/s estarían asociados a contaminaciones durante la manipulación de las muestras.

Se ha probado la detección de diferentes especies con las siguientes sondas genéricas:

- La sonda STAPHYL ha sido validada para la detección de:
 - *S. epidermidis*
 - *S. haemolyticus*
 - *S. capitis*
 - *S. hominis-hominis*
 - *S. intermedius*
- La sonda ENTEROC ha sido validada para la detección de:

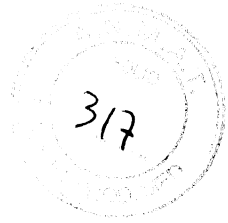




master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (64-11) 4864 - 7776
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:

CE




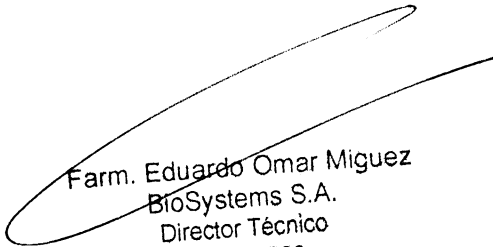
- *E. faecalis*
- *E. faecium*
- La sonda STREP ha sido validada para la detección de:
 - *S. pasteurianus*
 - *S. dysgalactiae*
 - *S. gallolyticus*
 - *S. macedonicus*
 - *S. mitis/oralis*
 - *S. salivarius*
 - *S. infantarium*
 - *S. pyogenes*
 - *S. intermedius*
- Otras especies de *Streptococcus* no detectadas con la sonda STREP:
 - *S. viridans*
 - *S. anginosus*
 - *S. parasanguinis*
- La sonda ENTEROB ha sido validada para la detección de:
 - *E. aerogenes*
 - *E. cloacae*
 - *K. oxytoca*
 - *K. pneumoniae*
 - *Morganella morganii*
 - *E. coli*
 - *S. marcescens*
 - *Citrobacter*
 - *Salmonella entérica*
- La sonda CAND ha sido validada para la detección de:
 - *C. tropicalis*
 - *C. parapsilosis*
 - *C. krusei*

A continuación, se expone un ejemplo de un informe en el que el caso analizado ha sido positivo para *Klebsiella pneumoniae*.



Vitro S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local B 41020 Sevilla (Spain)
Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio


Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

CE IVD

Rev.: 2019/05/31 21/36



Sepsis Flow Chip Kit

LOTES

PCR:	SEP002L	10/10/2020
Chips:	E035-13 HS	10/10/2020
Reactivo:	SEPH066-2	10/10/2020

DETALLES DE LA MUESTRA

ID MUESTRA:	Muestra134	TIPO DE MUESTRA:
ID PACIENTE:	PACIENTE:	
SEXO:	FECHA NAC.:	EDAD:

INFORME

SEP POSITIVO

MUESTRA POSITIVA PARA:

PATÓGENOS

Enterobacteriaceae, Klebsiella pneumoniae

GENES DE RESISTENCIA:

3- acilamasa de espectro extendido SHV

Muestra negativa para el resto de patógenos y genes de resistencia antibiótica incluidos en el test SEPSIS Flow chip.

PROTOCOLO

Detección de un panel de bacterias, hongos y genes de resistencia antibiótica mediante PCR múltiple e hibridación reversa automatizada, que incluye:

- Bacterias Gram positivas: Staphylococcus coagulans, negativa/Staphylococcus aureus/Enterococcus spp./Streptococcus spp./Streptococcus pneumoniae/Streptococcus agalactiae/Listeria monocytogenes
- Bacterias Gram negativas: Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Stenotrophomonas maltophilia, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens, Enterobacteriaceae, Proteus spp., Morganella morganii, Neisseria meningitidis.
- Hongos: Candida spp., Clabicans.
- Determinantes de resistencia a antibióticos: mecA, vanA, vanB, blaSHV, blaCTX-M, KPC, GME, NMC-IMI, GES, VIM, GIM, SPM, NDM, SIM, IMP, OXA23, OXA24, OXA40, OXA51, OXA50.

- Preparación de la muestra/extracción de ADN

- Usar suspensión de DNA de partida (preparado según instrucciones técnicas) para amplificar por PCR.

- Protocolo PCR Sepsis Flow CHIP: 1x 25° 10 min; 1x 94° 5 min; 40x [94° 30 s-55° 45 s-72° 60 s]; 1x 72° 7 min.

- protocolo HIBRIDACION REVERSA

Hibridación del producto de PCR biotinilado con Sepsis CHIP. Lavados post-hibridación, incubación con enzima Estreptavidina-Fosfatasa alcalina, revelado con NBT-BC P y análisis automático de resultados

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA

Posible resistencia a: Penicilinas y cefalosporinas de primera generación (Nota: Versiones mutadas de SHV podrían conferir resistencia a penicilinas y a cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación)

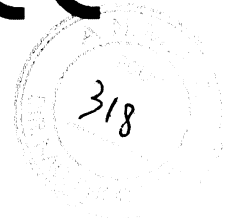
NOTAS

FACULTATIVO:	Default Doctor, doctor	Validado:	03/05/2019
Realizado por:	Default Tech, tech	Procesado:	03/05/2019
Instr. : Mock	Serial N°: 000024	hybriSoft:	HSHS 2.2.0.R00 / HSHS IPL 1.0.0.R05



master diagnostica

Importado por: **BioSystems S.A**
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (64-11) 4864 - 7776
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17603
Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:



master diagnostica

Sepsis Flow Chip Kit

LOTES

PCR:	SEP002L	10/10/2020
Chips:	E035-13 HS	10/10/2020
Reactivo:	SEPH066-2	10/10/2020

DETALLES DE LA MUESTRA

ID MUESTRA: Muestra124

TIPO DE MUESTRA:

ID PACIENTE:

PACIENTE:

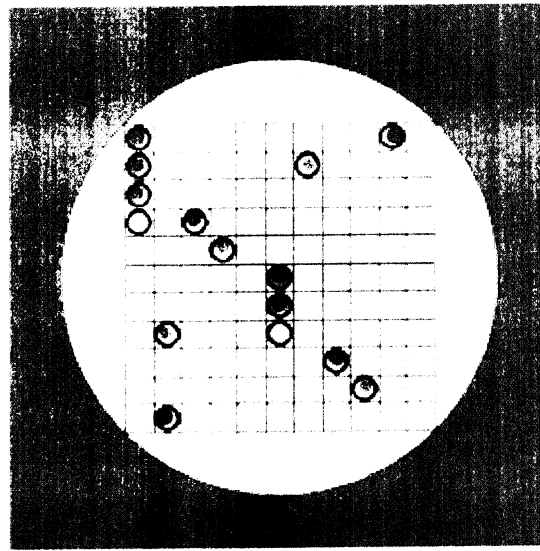
SEXO:

FECHA NAC.:

EDAD:

INFORME

ID	DESCRIPCIÓN	VALOR	UNIDAD	UNIDAD	UNIDAD	UNIDAD	UNIDAD
SPOT B	Control de hibridación	5	puntos				
SPOT C1	Control de amplificación	5	puntos				
SPOT B1	Control de DNA (Sonda de DNA genómico humano)	5	puntos				
SPOT #	Sondas específicas para cada patógeno	5	puntos				



- Spot B: Control de hibridación (5 puntos para orientar correctamente el CHIP)
 - Spot C1: Control de amplificación
 - Spot B1: Control de DNA (Sonda de DNA genómico humano)
 - Spot #: Sondas específicas para cada patógeno
- Todos los puntos están impresos por duplicado.

INFORMACIÓN DEL ANALISIS

Umbral: 4

FACULTATIVO:	Default Doctor, doctor	Validado:	03/05/2019
Realizado por:	Default Tech, tech	Procesado:	03/05/2019
Instr.:	Mock	Serial N°:	000024
hybriSoft:	HSHS 2.2.0.R00 / HSHS IPL 1.0.0.R05		

Vitro S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local B 41020 Sevilla (Spain)
Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Rev.: 2019/05/31 23/36

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

12 CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO

12.1 Funcionamiento analítico en hybriSpot 12 (HS12)

12.1.1 Repetitividad

La repetitividad del método se analizó ensayando el método un mínimo de siete veces para cada patógeno incluido en el panel a dos concentraciones distintas. El ensayo se realizó por un mismo operador, en una sola localización y usando un mismo lote de reactivos.

Organismo	Equivalentes genoma/reacción	Número de positivos/testados	% positivos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100	7/7	100%
	10	6/7	86%
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100	7/7	100%
	50	7/7	100%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Listeria monocytogenes</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Enterococcus faecalis</i>	100	7/7	100%
	10	4/7	57%
<i>Enterococcus faecium</i>	100	7/7	100%
	10	5/7	71%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Neisseria meningitidis</i>	500	7/7	100%
	100	5/7	71%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Escherichia coli</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100	7/7	100%
	10	6/7	86%
<i>Serratia marcescens</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Enterobacter cloacae</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Proteus mirabilis/Morganella</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%
<i>Candida albicans</i>	100	7/7	100%
	10	7/7	100%

Tabla 13: Ensayo de repetitividad para cada uno de los patógenos incluidos en el panel.



master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (54-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17603
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°.



12.1.2 Reproducibilidad

La precisión del método se analizó simulando la variabilidad interlaboratorio variando tanto el operario (1 y 2), como el lote de mix de PCR usado (SE005 y SE008) y el termociclador (Veriti TC-13 y Biometra TC-21) para cada condición. Se ensayaron nueve de los patógenos incluidos en el panel ocho veces y a dos concentraciones distintas usando DNA genómico purificado a partir de aislados clínicos y 24 muestras negativas. Se incluyeron todos los resultados válidos para calcular el porcentaje de resultados positivos. No se obtuvo ningún falso positivo. Los porcentajes de resultados positivos se indican en la tabla 19. La concordancia para ambas condiciones es muy buena, índice kappa de 0.93, error estándar de 0.07 e IC 95% de 0.8-1.07.

Organismo	GE /reacción	Condición		
		Laboratorio	Positivos/Válidos	%
<i>E. coli</i>	10	1	6/8	75
		2	6/8	75
	50	1	8/8	100
		2	8/8	100
<i>P. mirabilis/Morganella</i>	10	1	8/8	100
		2	8/8	100
	50	1	8/8	100
		2	8/8	100
<i>S. pneumoniae</i>	10	1	6/8	75
		2	7/8	87.5
	50	1	8/8	100
		2	8/8	100
<i>S. pyogenes</i>	10	1	7/8	87.5
		2	7/8	87.5
	50	1	8/8	100
		2	8/8	100
<i>L. monocytogenes</i>	10	1	7/8	87.5
		2	6/8	75
	50	1	7/8	87.5
		2	8/8	100
<i>S. maltophilia</i>	10	1	6/8	75
		2	7/8	87.5
	50	1	8/8	100
		2	8/8	100
<i>P. aeruginosa</i>	10	1	8/8	100
		2	7/8	87.5
	50	1	8/8	100
		2	8/8	100
Staphylococcus Coagulasa-Negativa	100	1	8/8	100
		2	8/8	100
<i>S. aureus</i>	10	1	8/8	100
		2	8/8	100
	50	1	8/8	100
		2	8/8	100
<i>C. albicans</i>	10	1	8/8	100
		2	8/8	100

Tabla 14: Ensayo de reproducibilidad para bacterias incluidas en el panel de SEPSIS.

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



VITRO S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 341020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. VITRO@VITRO.BIO; www.vitro.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BIOSYSTEMS S.A.



Rev.: 2019/05/31 25/36



12.1.3 Especificidad analítica

No se observaron reacciones cruzadas entre los patógenos incluidos en el test. Para el ensayo se partió de 10⁶ EG/reacción de cada cepa.

Organismo	Especificidad
Coagulase-Negative <i>Staphylococci</i>	100%
<i>Staphylococcus aureus</i>	100%
<i>Streptococcus spp.</i>	100%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100%
<i>Listeria monocytogenes</i>	100%
<i>Enterococcus spp.</i>	100%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	100%
<i>Neisseria meningitidis</i>	100%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100%
<i>Escherichia coli</i>	100%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100%
<i>Serratia marcescens</i>	100%
Enterobacteriaceae	100%
<i>Proteus spp./Morganella</i>	100%
<i>Candida spp.</i>	100%
<i>Candida albicans</i>	100%

Tabla 15: Especificidad de Sepsis Flow Chip.

No se observaron reacciones cruzadas con diferentes géneros de bacterias, hongos y virus, que pueden estar presentes en el entorno hospitalario. Para el ensayo se partió de 10⁶ EG/reacción de cada cepa.

Organismo		
Bacteria	Virus	Hongos
<i>Haemophilus influenzae</i>	Herpes simplex-1	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Herpes simplex-2	
<i>Coxiella burnetti</i>	Epstein Barr virus	
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Varicella Zoster virus	
<i>Treponema pallidum</i>		

Tabla 16: Especificidad de Sepsis Flow Chip

12.1.4 Sensibilidad analítica

Se calculó el límite de detección del kit para cada uno de los patógenos analizados. La determinación del número mínimo de copias detectadas se realizó mediante diluciones seriadas del ADN genómico de cada una de las cepas incluidas en el panel con 5 ng de ADN genómico humano. Para calcular la sensibilidad, especificidad e intervalo de confianza cada muestra se repitió entre 5 y 14 veces. Todas las PCRs fueron hibridadas usando la plataforma hybriSpot 12. Los resultados se analizaron con hybriSoft y el valor establecido para considerar las señales positivas fue de 4 (intensidad de gris).





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A.
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (64-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:



Organismo	Sonda	EG/ reacción	Positivos/ Testados	Sensibilidad	Intervalo confianza 95%	Especificidad	Intervalo confianza 95%
<i>S. epidermidis</i>	mecA	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.1%-99.9%
	mecA	100	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.1%-99.9%
	STAPHYL	10	10/14	71%	45.4%-88.3%	100%	98.7%-100%
	STAPHYL	100	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.7%-100%
<i>S. aureus</i>	SA	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.8%-100%
	SA	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.8%-100%
	STAPHYL	10	2/14	14%	4%-39.9%	100%	98.7%-100%
	STAPHYL	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.7%-100%
<i>S. pneumoniae</i>	SPNE	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.8%-100%
	SPNE	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.8%-100%
	STREP	10	13/14	93%	68.5%-98.7%	96%*	93.1%-97.7%
	STREP	100	6/6	100%	61%-100%	96%*	93.1%-97.7%
<i>S. agalactiae</i>	SAGAL	50	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.8%-100%
	SAGAL	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.8%-100%
<i>S. pyogenes</i>	SPYOG	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.8%-100%
	SPYOG	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.8%-100%
<i>L. monocytogenes</i>	LIS	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.6%-100%
	LIS	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.6%-100%
<i>E. faecalis</i>	ENTEROC	10	2/14	14%	4%-39.9%	100%	98.6%-100%
	ENTEROC	100	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.6%-100%
<i>E. faecium</i>	ENTEROC	50	4/6	67%	30%-90.4%	100%	98.6%-100%
	ENTEROC	100	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.6%-100%
<i>P. aeruginosa</i>	PAER	10	14/14	100%	78.5%-100%	97%**	94.3%-98.3%
	PAER	100	6/6	100%	61%-100%	97%**	94.3%-98.3%
<i>A. baumannii</i>	ABAU	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.9%-100%
	ABAU	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.9%-100%
<i>N. meningitidis</i>	NEIS	100	8/10	80%	49%-94.3%	100%	98.8%-100%
	NEIS	500	10/10	100%	74.2%-100%	100%	98.8%-100%
<i>S. maltophilia</i>	SMALTO	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.8%-100%
	SMALTO	100	5/5	100%	56.5%-100%	100%	98.8%-100%
<i>E. coli</i>	ECOLI	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.6%-100%
	ECOLI	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.6%-100%
<i>K. pneumoniae</i>	KLEB	10	12/14	86%	60.1%-96%	100%	98.6%-100%
	KLEB	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.6%-100%
<i>S. marcescens</i>	SMAR/KLEB	10	8/8	100%	67.6%-100%	100%	98.8%-100%
	SMAR/KLEB	100	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.8%-100%
<i>E. cloacae</i>	ENTEROB	10	14/14	100%	78.5%-100%	97%**	94.3%-98.5%
	ENTEROB	100	6/6	100%	61%-100%	97%**	94.3%-98.5%
<i>P. mirabilis/Morganella</i>	PROT/MOR	10	17/17	100%	81.6%-100%	100%	98.8%-100%
	PROT/MOR	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.8%-100%
<i>C. albicans</i>	CALB	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.9%-100%
	CALB	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.9%-100%
	CAND	10	14/14	100%	78.5%-100%	100%	98.9%-100%
	CAND	100	6/6	100%	61%-100%	100%	98.9%-100%

Tabla 17: Sensibilidad analítica (LoD): equivalentes genoma de cada patógeno que da resultados positivos en el 100% de las réplicas analizados con software hybriSoft y punto de corte de positividad en un valor de 4.

* La sonda de *Streptococcus spp.* muestra un 96% de especificidad por posible contaminación con cantidades mínimas de *Streptococcus spp.* durante la manipulación de las muestras, de los reactivos o de los plásticos.

**Las sondas PAER y ENTEROB muestran un 97% de especificidad debido a la presencia de cantidades traza de ADN microbiano en las ADN polimerasas termoestables comerciales. Se piensa que las fuentes de la contaminación bacteriana pueden ser de algún paso del proceso de purificación o bien algún reactivo añadido al enzima. Tras llevar a cabo alineamientos de secuencias de ADN de tres Taq polimerasas se ha encontrado que el ADN bacteriano contaminante presenta homología con especies de *Pseudomonas* y otras fitobacterias, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*. (Spangler et al 2009. PLoS ONE, 4(9): e7010).



VITRO S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 341020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. viro@vitro.bio; www.vitro.bio

[Signature]
 Dra MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BIOSYSTEMS S.A.

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



Rev.: 2019/05/31 27/36

12.2 Funcionamiento analítico en hybriSpot 24

Se validó el funcionamiento y robustez del kit Sepsis Flow Chip en el equipo automático HS24 analizando concentraciones límite de fragmentos sintéticos de ADN de los principales patógenos asociados a infecciones nosocomiales en humanos incluidos en el panel. Esta validación demuestra la reproducibilidad de los resultados entre las posiciones 1 y 24 del equipo HS24 y la reproducibilidad de los resultados con diferentes programas para distinto número de muestras.

12.2.1 Reproducibilidad de resultados en programas para distinto número de muestras

Se realizaron réplicas de una muestra positiva que contenía un número de copias límite de *E. coli* (10 GE/reacción). Estas réplicas se situaron en diferentes posiciones de la cámara de reacción del equipo HS24 y se evaluaron cinco protocolos diferentes:

- Protocolo para 2 muestras (2 réplicas)
- Protocolo para 6 muestras (2 réplicas)
- Protocolo para 12 muestras (3 réplicas)
- Protocolo para 15 muestras (4 réplicas)
- Protocolo para 24 muestras (5 réplicas)

Los resultados fueron analizados de forma automática con hybriSoft y no se detectaron diferencias entre las distintas posiciones de la cámara de reacción ni entre los protocolos utilizados.

12.2.2 Reproducibilidad de resultados en diferentes posiciones de hibridación en HS24

Se realizaron entre doce y veintidós réplicas para diferentes patógenos, situadas en diferentes posiciones de las dos cámaras de reacción del HS24, en varios runs y con el protocolo para 24 muestras. Los resultados fueron analizados de forma automática con hybriSoft, demostrando un 100% de reproducibilidad para todas las muestras analizadas en diferentes posiciones a excepción de una réplica de *Klebsiella pneumoniae*, para la cual la reproducibilidad fue del 95.5%.

Bacteria	GE/reacción	Positivos/testados	Diferencia entre posiciones
<i>S. aureus</i>	10	12/12	No
<i>S. pneumoniae</i>	10	12/12	No
<i>S. agalactiae</i>	50	12/12	No
<i>S. pyogenes</i>	10	12/12	No
<i>A. baumannii</i>	10	12/12	No
<i>K. pneumoniae</i>	100	21/22	Leve
<i>P. mirabilis/Morganella</i>	10	12/12	No
<i>C. albicans</i>	10	12/12	No
<i>P. aeruginosa</i>	10	12/12	No
<i>S. epidermidis</i>	100	12/12	No
<i>E. coli</i>	10	12/12	No

Tabla 18: Reproducibilidad del kit Sepsis Flow CHIP en HS24. La positividad se analizó con el software hybriSoft, estableciendo como punto de corte el valor de 4.

12.3 Funcionamiento analítico en hybriSpot 12 PCR AUTO (HS12a)

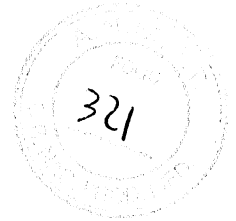
Se validó el funcionamiento y robustez de Sepsis Flow Chip kit asociado a la plataforma de hibridación *HybriSpot 12 PCR AUTO* (HS12a) mediante ensayos funcionales en los que se evaluaron los siguientes parámetros:





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (54-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:



- Verificación del límite de sensibilidad (LoD) para cada patógeno
- Reproducibilidad de resultados en programas para distinto número de muestras

12.3.1 Verificación del límite de sensibilidad (LoD) para cada patógeno del panel

Se amplificaron réplicas de muestras que contenían cada uno de los fragmentos sintéticos correspondientes a cada uno de los patógenos a concentraciones límite junto con 5 ng de ADN genómico humano. La amplificación e hibridación se llevó a cabo en dos sistemas automáticos HS12a.

Patógeno	Sonda	Nº copias/reacción	Positivos/Testados
<i>S. epidermidis</i>	STAPHYL	100	3/3
<i>S. aureus</i>	SA	10	3/3
<i>S. pneumoniae</i>	SPNE	10	3/3
<i>S. agalactiae</i>	SAGAL	50	3/3
<i>S. pyogenes</i>	SPYOG	10	3/3
<i>L. monocytogenes</i>	LIS	10	3/3
<i>E. faecalis</i>	ENTEROC	100	3/3
<i>E. faecium</i>	ENTEROC	100	3/3
<i>P. aeruginosa</i>	PAER	10	3/3
<i>A. baumannii</i>	ABAU	10	3/3
<i>N. meningitidis</i>	NEIS	500	3/3
<i>S. maltophilia</i>	SMALTO	10	3/3
<i>E. coli</i>	ECOLI	10	3/3
<i>K. pneumoniae</i>	KLEB	100	3/3
<i>S. marcescens</i>	SMAR/KLEB	10	3/3
<i>E. cloacae</i>	ENTEROB	10	3/3
<i>P. mirabilis</i>	PROT/MOR	10	3/3
<i>C. albicans</i>	CALB	10	3/3
	CAND	10	3/3

Tabla 19: Reproducibilidad de Sepsis Flow Chip en HS12a. Los resultados fueron analizados automáticamente con hybriSoft estableciendo como punto de corte de positividad un valor de 4.

12.3.2 Reproducibilidad de resultados en programas para distinto número de muestras

La reproducibilidad se analizó usando la Mix de PCR en formato liofilizado. Se amplificaron réplicas de dos pools de muestra positivas que contenían un número de copias límite de ADN sintético del pool1: *S. aureus* y *ndm* (10 y 500 copias/reacción, respectivamente) y del pool 2: *Paer* y *vim* (10 y 100 copias/reacción, respectivamente). A ambos pools se les añadió 5 ng de ADN genómico humano. Una vez finalizada la PCR, las réplicas de cada muestra positiva se mezclaron y un mismo volumen de producto de PCR se dispensó en diferentes posiciones de las cámaras de hibridación del equipo HS12a evaluándose dos protocolos diferentes:

- Protocolo 1 para 2 muestras: 2 réplicas de cada pool de ADN sintéticos en las posiciones 1 y 2.
- Protocolo 2 para 12 muestras: 3 réplicas de cada pool de ADN sintéticos en las posiciones 1, 6 y 12.



Vitro S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 341020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. www.vitro-bio.com

(Signature)
 Dña. MARIANA MILA PEREZ
 APODERADA
 Biosystems S.A.



Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503
 Rev.: 2019/05/31 29/36

Los resultados obtenidos fueron analizados de forma automática con el *software HybriSoft*. En todos los casos los ADN sintéticos de los dos pools utilizados fueron detectados como positivos. Las diferencias de intensidad observadas entre unas posiciones y otras son aceptables.

12.4 Clínico

12.4.1 Especificidad y sensibilidad clínica en hemocultivos

Se analizaron con el kit Sepsis Flow Chip 196 muestras de hemocultivos (168 positivos y 28 negativos) de forma retrospectiva, previamente analizados con un método fenotípico de referencia. La especificidad diagnóstica se expresa como un porcentaje (fracción numérica multiplicada por 100), calculada como $100 \times \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FP}}$. La sensibilidad diagnóstica se expresa como un porcentaje (fracción numérica multiplicada por 100), calculada como $100 \times \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}}$.

Organismo	TN	FP	TP	FN	Especificidad diagnóstica	Sensibilidad diagnóstica
<i>Staphylococcus Coagulasa-Negativa</i>	144	0	51	1	100%	98%
<i>Staphylococcus aureus</i>	185	0	11	0	100%	100%
<i>mecA</i>	156	0	40	0	100%	100%
<i>Streptococcus spp.</i>	190	0	6	0	100%	100%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	192	0	4	0	100%	100%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	196	0	0	0	100%	NT
<i>Streptococcus pyogenes</i>	194	0	2	0	100%	100%
<i>Listeria monocytogenes</i>	196	0	0	0	100%	NT
<i>Enterococcus spp.</i>	184	0	12	0	100%	100%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	192	0	4	0	100%	100%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	190	0	6	0	100%	100%
<i>Neisseria meningitidis</i>	196	0	0	0	100%	NT
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	195	0	1	0	100%	100%
<i>Escherichia coli</i>	145	0	51	0	100%	100%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	189	0	7	0	100%	100%
<i>blaCTX-M</i>	191	0	5	0	100%	100%
<i>blaSHV</i>	188	0	8	0	100%	100%
<i>Serratia marcescens</i>	194	0	2	0	100%	100%
<i>Enterobacteriaceae</i>	185	0	11	0	100%	100%
<i>Proteus mirabilis</i>	193	0	3	0	100%	100%
<i>Morganella morganii</i>	194	1	2	0	99.5%	100%
<i>Candida spp.</i>	196	0	0	0	100%	NT
<i>Candida albicans</i>	190	0	6	0	100%	100%

Tabla 20: Especificidad y sensibilidad diagnóstica de Sepsis Flow CHIP sobre muestras de hemocultivo. NT: No testado.

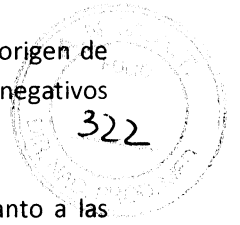
12.4.2 Identificación de mecanismos de resistencia con Sepsis Flow CHIP

Para evaluar la detección de los genes de resistencia incluidos en el panel se analizó una colección de 217 aislados clínicos, previamente caracterizados por métodos fenotípicos y moleculares estándares, portadores de todos los marcadores de resistencia a antibióticos incluidos en el panel de detección del kit



master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Darrego 673 (C1414CKB)
 TEL.: (64-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:



Sepsis Flow Chip. Los aislados clínicos habían sido recopilados entre los años 2011 a 2015 y el origen de aislamiento correspondía a portadores rectales o hemocultivos. Se incluyeron como controles negativos diferentes cepas de la ATCC (n=6).

Del total de 217 muestras, el kit identificó correctamente todas las cepas bacterianas. En cuanto a las resistencias, detectó correctamente 31 de 31 cepas Gram positivas con diferentes marcadores de resistencia y 28 de 28 bacterias Gram negativas portadoras de blaCTX-M y/o blaSHV. Del resto de cepas Gram negativas portadoras de carbapenemasas el kit detectó correctamente 157 de un total de 158 (tabla 21). Únicamente no se detectó una cepa de *Klebsiella pneumoniae* portadora de IMP. Al secuenciar este gen se comprobó que se trataba del alelo imp-4, el cual no está incluido en el panel de detección del kit. No se obtuvieron falsos positivos. El método Sepsis Flow Chip mostró una sensibilidad y especificidad del 100%, en una colección de aislados clínicos que contenía todos los marcadores de resistencia a antibióticos cubiertos por el kit.

Marcadores de resistencias testados	Resultados con SFC kit
Cepas gram positivas testadas	
vanA	<i>Enterococcus spp.</i> vanA (1)
vanB	<i>Enterococcus spp.</i> vanB (2)
mecA	<i>S. aureus</i> mecA (3), <i>Staphylococcus</i> CoNS (25)
Cepas gram negativas testadas	
CTX-M	<i>E. coli</i> (20)
SHV	<i>K. pneumoniae</i> (5), <i>E. coli</i> (2)
CTX-M + SHV	<i>E. coli</i> (1)
KPC + SHV	<i>K. pneumoniae</i> (1)
SME	<i>S. marcescens</i> (2)
NMC	<i>E. asburiae</i> (1), <i>E. cloacae</i> (1)
GES	<i>A. baumannii</i> (2), <i>E. coli</i> (1)
IMP + OXA-51	<i>A. baumannii</i> (1)
IMP + SHV	<i>K. pneumoniae</i> (2)
IMP	<i>K. oxytoca</i> (1), <i>P. aeruginosa</i> (1)
VIM + CTX-M	<i>E. cloacae</i> (1)
VIM	<i>K. pneumoniae</i> VIM (13), <i>E. coli</i> VIM (2), <i>P. aeruginosa</i> VIM (63), <i>E. cloacae</i> (9), <i>K. oxytoca</i> (5)
SPM	<i>P. aeruginosa</i> (2)
SIM	<i>A. baumannii</i> (1)
NDM	<i>E. coli</i> (2)
OXA-23 + OXA-51	<i>A. baumannii</i> (1)
OXA-24 + OXA-51	<i>A. baumannii</i> (2)
OXA-48	<i>K. pneumoniae</i> (21), <i>E. coli</i> (2)
OXA-51	<i>A. baumannii</i> (9)
OXA-58	<i>A. baumannii</i> (1)
OXA-58 + OXA-51	<i>A. baumannii</i> (11)



Vitro S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. info@vitro.bio; www.vitro.bio

[Signature]
 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.



Rev.: 2019/05/31 31/36

Farm. Eduardo Omar Miguez

BioSystems S.A.

Director Técnico

M.N. 17503



Muestras control negativo	
Ausencia de genes de resistencia a antibióticos	ATCC 12401, ATCC 29213, ATCC 35659, ATCC 49619, ATCC BAA-751 and ATCC 25922

Tabla 21: Genes de resistencia a antibióticos identificados con el kit Sepsis Flow Chip.

12.4.3 Especificidad y sensibilidad clínica en exudados rectales

En un estudio retrospectivo se analizaron un total de 73 exudados rectales (34 positivos y 39 negativos) de forma retrospectiva, los cuales habían sido previamente analizadas con métodos fenotípicos y moleculares de referencia para detección de betalactamasas de espectro extendido y de carbapenemasas.

Se determinó la especificidad y sensibilidad clínica del kit sepsis Flow Chip según las fórmulas descritas en el apartado 12.41.

Sepsis Flow Chip kit	Métodos Gold Standard		
	Ausente	Presente	Total
Test positivo	2	34	36
Test negativo	39	0	39
Total	41	34	75

	Valor estimado	Intervalo de Confianza 95%	
		Límite inf.	Límite sup.
Sensibilidad	1	0.873	1
Especificidad*	0.951*	0.822	0.991

Tabla 22: Especificidad y sensibilidad diagnóstica de Sepsis Flow Chip sobre muestras de exudados rectales.

*La especificidad clínica fue del 95.1% debido a que el kit dio dos falsos positivos para SHV de amplio espectro, que en este caso al tratarse del gen de localización cromosómica en cepas de *K. pneumoniae* no confiere resistencia a betalactámicos de espectro extendido.

12.4.4 Validación de Sepsis Flow Chip kit para su uso en PCR directa desde colonias

El kit Sepsis Flow Chip ha sido validado para su uso partiendo directamente de suspensiones celulares. Para ello se testaron un total de 40 colonias de aislados clínicos procedentes de siete hospitales españoles (H. Carlos Haya, H. Valle Hebrón, H. Virgen del Rocío, H. Donostia, H. Virgen de las Nieves, HUCA y H. San Pedro). Los diferentes microorganismos testados o bien no contenían marcadores de resistencia a antibióticos o bien eran portadores de uno o varios genes de resistencia. Los lotes de los kits de Sepsis usados en los diferentes hospitales fueron Lote SEP011, Lote SEP012, Lote SEP014, Lote SEP015 y Lote SEP016. Los termocicladores empleados fueron aquellos de uso rutinarios en el hospital, principalmente diferentes modelos de Applied Biosystems (Veriti, GeneAMP® PCR System).

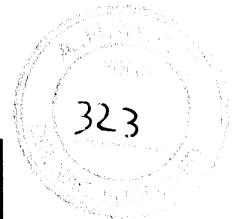
Siguiendo el protocolo de PCR directa a partir de colonia (apartado 7.3), el kit Sepsis Flow chip detectó correctamente el 100% de los géneros bacterianos encontrados en todos los aislados clínicos (n=40). En cuanto a los genes de resistencia a antibióticos, el kit detectó correctamente 58 de 59 genes. El gen que no detectado fue blaTEM, la razón es que este es un marcador que no está incluido en el panel de detección del kit.





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (64-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:



Cepas y marcadores de resistencias testados	Resultados con SFC kit
<i>Enterococcus spp.</i> (1)	<i>Enterococcus spp.</i> (1)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (1)	<i>Streptococcus spp.</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1)
<i>Candida albicans</i> (1)	<i>Candida spp.</i> , <i>Candida albicans</i> (1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV (3)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV (2) <i>Klebsiella pneumoniae</i> , Enterobacteriaceae, SHV (1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, CTX-M (6)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, CTX-M (6)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, CTX-M, Oxa48 (1)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, CTX-M, Oxa48 (1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, Oxa48 (2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , Enterobacteriaceae, SHV, Oxa48 (2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, VIM (3)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , Enterobacteriaceae, SHV, VIM, GES (1) <i>Klebsiella pneumoniae</i> , Enterobacteriaceae, SHV, VIM (2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, CTX-M, VIM (1)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, CTX-M, VIM (1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, KPC (2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , SHV, KPC (2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , BLEE (1)	Enterobacteriaceae, IMP19 (1)
Enterobacteria, CTX-M (1)	<i>Morganella morganii</i> , CTX-M (1)
<i>P. aeruginosa</i> (1)	<i>P. aeruginosa</i> (1)
<i>P. aeruginosa</i> , VIM (1)	<i>P. aeruginosa</i> , VIM (1)
<i>Proteus mirabilis</i> , CTX-M-32 (1)	<i>Proteus</i> , CTX-M (1)
<i>Salmonella enterica</i> , CTX-M-10 (1)	Enterobacteriaceae, CTX-M (1)
<i>Salmonella enterica</i> , SHV-12 (1)	Enterobacteriaceae, SHV (1)
<i>Enterobacter cloacae</i> , CTX-M-15 (1)	Enterobacteriaceae, CTX-M (1)
<i>Enterobacter cloacae</i> , Oxa48 (1)	Enterobacteriaceae, Oxa48 (1)
<i>Enterobacter cloacae</i> , CTX-M-15, Oxa48 (1)	Enterobacteriaceae, CTX-M, Oxa48, GES (1)
<i>E. coli</i> , TEM (1)	<i>E. coli</i> , Enterobacteriaceae (1)
<i>E. coli</i> , Oxa48 (2)	<i>E. coli</i> , Oxa48 (2)
<i>E. coli</i> , CTX-M (2)	<i>E. coli</i> , Enterobacteriaceae, CTX-M (2)
<i>E. coli</i> , CTX-M, Oxa48 (1)	<i>E. coli</i> , Enterobacteriaceae, CTX-M, Oxa48 (1)
<i>E. coli</i> , SIM, Oxa48 (1)	<i>E. coli</i> , SIM, Oxa48 (1)
<i>E. coli</i> , SHV, KPC, VIM (1)	<i>E. coli</i> , Enterobacteriaceae, SHV, KPC, VIM (1)
<i>Acinetobacter</i> , Oxa23, oxa51 (1)	<i>Acinetobacter</i> , Oxa23, oxa51 (1)

Tabla 23: Aislados clínicos identificados con Sepsis Flow Chip kit en PCR directa a partir de colonia.

13 LIMITACIONES

Utilización de muestras no adecuadas: el método ha sido validado con muestras diluidas de hemocultivos, material genético purificado procedente de exudados rectales, muestras diluidas de exudados rectales y colonias (ver apartado 7). El análisis de cualquier otro tipo de muestra no indicado puede generar resultados erróneos o no concluyentes por inhibición de la reacción de PCR por agentes químicos inhibitorios.

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



Vitro S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. vitro.vitro.bio; www.vitro.bio

Dr. MARIANA VILA PEREIRA
 APODERADA
 BioSystems S.A.



Rev.: 2019/05/31 33/36

14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Problema	Causas	Soluciones
No se observa ninguna señal/ no hay señal de hibridación	Fallo en el protocolo de hibridación Los reactivos de hibridación han caducado o no han sido almacenados de forma adecuada Posible degradación del ADN de los Chips durante el proceso de descontaminación de superficies y material.	Comprobar que se han añadido todos los reactivos de hibridación en el orden correcto (plataforma manual). Comprobar el funcionamiento del hybriSpot (plataforma automática). Repetir la prueba. Comprobar la fecha de caducidad y las condiciones de almacenamiento de los reactivos y de los Chips. Repetir el test. Limpiar con agua destilada abundante las cámaras de reacción. Repetir el test.
Presencia de microorganismo/resistencia en control negativo	Problemas de contaminación en las zonas pre-PCR o post-PCR.	Descontaminar (lejía 1%) las áreas de trabajo y repetir el test.
No hay señal de control exógeno de amplificación	Problemas en la amplificación por PCR. Presencia de inhibidores de PCR en la muestra problema.	Comprobar que el programa del termociclador es el adecuado, que la mezcla madre de PCR se ha preparado de forma adecuada y que los reactivos de PCR se conservan correctamente. Repetir el test. Si la muestra de partida corresponde a una dilución 1:10 de una suspensión de exudado rectal purificar el ADN con alguno de los sistemas de extracción validados (ver preparación de la muestra en apartado 7). Si se parte de ADN purificado comprobar que el sistema de extracción del material genético empleado funciona correctamente incluyendo un control de extracción.
No hay señal de control endógeno de amplificación	Cantidad insuficiente de ADN humano en la muestra problema. Presencia de inhibidores de PCR en la muestra problema.	Repetir la PCR aumentando la cantidad de muestra de partida o disminuyendo la dilución inicial de la muestra. En todo caso, cuando se trate de muestras de hemocultivos, no usar diluciones inferiores a la dilución 1:10.
Señales débiles en la hibridación	Reactivos de PCR y/o hibridación caducados o almacenados de forma incorrecta. Error en el protocolo de hibridación. El producto de PCR no se desnaturalizó correctamente antes de la hibridación. Baja calidad/cantidad del ADN empleado.	Comprobar la caducidad de los reactivos, la conservación de mezcla de PCR y reactivos. Comprobar las temperaturas y tiempos de hibridación y verificar el funcionamiento del equipo hybriSpot. Verificar que la desnaturalización se ha realizado correctamente. Repetir el test. Incrementar la cantidad de muestra o de ADN de partida. Verificar el correcto funcionamiento del sistema de extracción de ácidos nucleicos empleado.

15 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

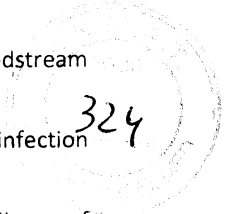
- Wisplinghoff H, Seifert H, Tallent SM, Bischoff T, Wenzel RP, et al. (2003) Nosocomial bloodstream infections in pediatric patients in United States hospitals: epidemiology, clinical features and susceptibilities. *Pediatric Infect Dis J* 22: 686–691.





master diagnostica

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 873 (C 14 14CKB)
 TEL: (64-11) 4864 - 7776
 Director Técnico: Eduardo Omar Miguez MN 17503
 Producto para Diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:



- Grisarú-Soen G, Sweed Y, Lerner-Geva L, Hirsh-Yechezkel G, Boyko V, et al. (2007) Nosocomial bloodstream infections in a pediatric intensive care unit: 3-year survey. *Med Sci Monit* 13: 251–257.
- Joram N, de Saint Blanquat L, Stamm D, Launay E, Gras-Le Guen C (2012) Healthcare-associated infection prevention in pediatric intensive care units: a review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10: 2481-90.
- Becerra MR, Tantaleán JA, Suárez VJ, Alvarado MC, Candela JL, et al. (2010) Epidemiologic surveillance of nosocomial infections in a Pediatric Intensive Care Unit of a developing country. *BMC Pediatr* 10: 66.
- Ariffin N, Hasan H, Ramli N, Ibrahim NR, Taib F, et al. (2012) Comparison of antimicrobial resistance in neonatal and adult intensive care units in a tertiary teaching hospital. *Am J Infect Control* 40: 572–575.
- Burke JP (2003). Infection Control — A Problem for Patient Safety. *N Engl J Med*; 348: 651-656.
- Elward AM, Hollenbeak CS, Warren DK, Fraser VJ (2005) Attributable cost of nosocomial primary bloodstream infection in pediatric intensive care unit patients. *Pediatrics* 115: 868–872.
- Slonim AD, Kurtines HC, Sprague BM, Singh N (2001) The costs associated with nosocomial bloodstream infections in the pediatric intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med* 2: 170–174.
- Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, et al. (2009) Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 48: 1–12.
- Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, et al. (2004) Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 39: 309–317.
- Russell JA (2006). Management of sepsis. *N Engl J Med* 355: 1699–1713
- Kumar A, Roberts D, Wood KE et al (2006) Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 34: 1589–1596
- Ecker DJ, Sampath R, Li H, Massire C, Matthews HE, Toleno D, et al. (2010). New technology for rapid molecular diagnosis of bloodstream infections. *Expert Rev MolDiagn* 10: 399–415
- Yagupsky P, Nolte FS (1990). Quantitative aspects of septicemia. *Clin Microbiol Rev* 3: 269–279
- Rello J, Lisboa T, Lujan M, Gallego M, Kee C, et al. (2009) Severity of pneumococcal pneumonia associated with genomic bacterial load. *Chest* 136: 832–840.
- Burke JP (2003) Infection Control — A Problem for Patient Safety. *N Engl J Med* 348: 651-656.
- Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM et al. (2008) Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med* 36: 296–327.
- Fenollar F, Raoult D (2007). Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non-cultivable bacteria. *Int J Antimicrob Agents* Suppl. 1: S7–S15.
- Choi Y, Wang HY, Lee G, Park SD, Jeon BY, et al (2013). PCR-Reverse Blot Hybridization Assay for Screening and Identification of Pathogens in Sepsis. *J Clin Microbiol* 51: 1451–1457
- Saikaly PE, Barlaz MA, de los Reyes FL 3rd (2007). Leachate Warfare Agents in Building Debris and Quantification of Surrogate Biological PCR Assays for Detection and Development of Quantitative Real-Time. *Appl Environ Microbiol* 73(20):6557
- Cattoir V, Gilibert A, Le Glaunec JM, Launay N, Bait-Mérabet L et al. (2010). Rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* from positive blood cultures by quantitative PCR. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 9:21
- Hartman LJ, Selby EB, Whitehouse CA, Coyne SR, Jaissle JG, et al (2009). Rapid Real-Time PCR Assays for Detection of *Klebsiella pneumoniae* with the *rmpA* or *magA* Genes Associated with the Hypermucoviscosity Phenotype. *J Mol Diagn* 11: 464-471
- Park HK, Lee HJ, Kim W (2010). Real-time PCR assays for the detection and quantification of *Streptococcus pneumoniae*. *FEMS Microbiol Lett* 310: 48–53



VITRO S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano 60 Ed. Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (Spain)
 Tel: +34 954 933 200. www.vitro.bio; www.vitro.bio

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BIOSYSTEMS S.A.



Rev. 2019/05/31 35/36
 Firm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



- Spangler R., Goddard NL, Thaler DS (2009). Optimizing Taq Polymerase Concentration for Improved Signal-to-Noise in the Broad Range Detection of Low Abundance Bacteria *PLoS ONE*, 4: e7010

16 SÍMBOLOS DE LA ETIQUETA

	Para uso en diagnóstico in vitro		Fecha de caducidad
	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Código de lote		Fabricante
	Consúltese las instrucciones de uso		Contenido suficiente para <n> ensayos

17 GLOSARIO

ADN: ácido desoxirribonucleico

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

HS12: hybriSpot 12 (plataforma manual)

HS24: hybriSpot 24 (plataforma automática)

HS12a: hybriSpot 12 PCR AUTO (plataforma automática)

NBT-BCIP: Cloruro de nitroblue tetrazolium- 5-Bromo-4-cloro-3-indolil fosfato

MgCl₂ : cloruro de magnesio

dNTPs: desoxirribonucleótidos trifosfato

DNasas: desoxirribonucleasas

RNasas: ribonucleasas

dUTP: Deoxyuridine Triphosphate

CDC: Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de EEUU

GE: equivalentes de genoma

VP: verdaderos positivos

VN: verdaderos negativos

FP: falsos positivos

FN: falsos negativos

ATCC: Colección americana de cultivos tipo

SFC: Sepsis Flow Chip



ROTULADO - SEPSIS CNS Flow Chip Kit parahybriSpot12 (HS12)

Todos los componentes del kit se suministran en dos cajas separadas que contienen respectivamente los reactivos de PCR y los reactivos de hibridación.



PARA 24 DETERMINACIONES

Externo



Sepsis Flow Chip Kit (HS12)

CE

IVD

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

REF MAD-003936M-HS12-24 (24 tests)

LOT SEP021+SEH055-3

01/2019 2°C 8°C



EAN:8435421207547



(01)08435421207547(17)190131(10)SEP021+SEH055-3

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 - 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Dra. MARIANA VILA PEREZ
ARODERADA
BioSystems S.A.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Componentes para PCR – 24 determinaciones

EXTERNOS

326



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

**Sepsis Flow Chip Kit (HS12/HS24)
(PCR Reagents)**

CE

IVD

REF MAD-003936M-P-HS-24 (24 tests)

LOT SEPP023

05/2019

20°C 8°C



EAN:8435421210110



(01)08435421210110(17)190531(10)SEPP023

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Componentes para PCR – 24 determinaciones
internos

Mix 1 Multiplex PCR
vitro
in vitro diagnostic
REF MAD-003836M-MIX1-HS (8 test)
LOT SE023
05/2019 20x 8°C
CE
IVD

Mix 2 Multiplex PCR
vitro
in vitro diagnostic
REF MAD-003936M-MIX2-HS (8 test)
LOT SE023
05/2019 20x 8°C
CE
IVD

Importado por:
BioSystems S.A.
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (54-11) 4854 – 7775
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503
Producto para Diagnostico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

328

Componentes para hibridación x 24 determinaciones

Externo



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

Sepsis Flow Chip Kit (HS12) (Hybridization Reagents)

CE

IVD

REF MAD-003936M-H-HS12-24 (24 tests)

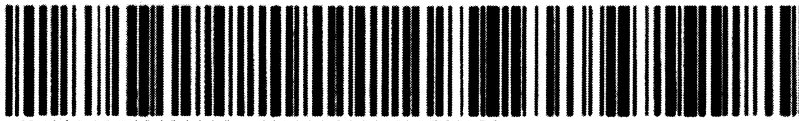
LOT SEH056

01/2019

2°C / 8°C



EAN:8435421210028



(01)08435421210028(17)190131(10)SEH056

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 - 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

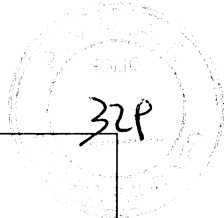
Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

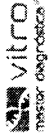
Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



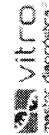
Componentes para hibridacion internos x 4 determinaciones

Internos

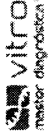
Hybridization Solution (Reagent A)


REF MAD-003930MA-HS12-24 (24 tests)
LOT A056
 07/2019 *zc* ^{80C}
CE
IVD

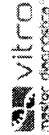
Washing Buffer I (Reagent D)


REF MAD-003930MD-HS12-24 (24 tests)
LOT D050
 06/2019 *zc* ^{80C}
CE
IVD


Blocking Solution (Reagent B)


REF MAD-003930MB-HS12-24 (24 tests)
LOT B046
 07/2019 *zc* ^{80C}
CE
IVD

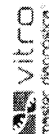
Reagent E


REF MAD-003930ME
LOT E047
 06/2019 *zc* ^{80C}
CE
IVD

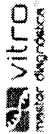

Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)


REF MAD-003930MC-HS12-24 (24 tests)
LOT C072
 03/2019 *zc* ^{80C}
CE
IVD

Washing Buffer II (Reagent F)


REF MAD-003930MF-HS12-24 (24 tests)
LOT F042
 07/2019 *zc* ^{80C}
CE
IVD

Sepsis Chip (HS)


REF MAD-003936M-CH-HS-24 (24 units)
LOT SEP-E034
 05/2019 *zc* ^{80C}

CE
IVD

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dra. MARIANA VILVA PÉREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

330

ROTULADO - SEPSIS CNS Flow Chip Kit parahybriSpot12 (HS12)

Todos los componentes del kit se suministran en dos cajas separadas que contienen respectivamente los reactivos de PCR y los reactivos de hibridación.

PARA 48 DETERMINACIONES

Externo



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

Sepsis Flow Chip Kit (HS12)

CE

IVD

REF MAD-003938M-HS12-48 (48 tests)

LOT SEPP022+H057

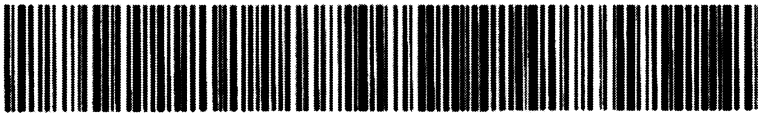
03/2019

8°C

2°C



EAN:8435421210059



(01)08435421210059(17)190331(10)SEPP022+H057

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 - 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

331

Componentes para PCR – 48 determinaciones

EXTERNOS



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

**Sepsis Flow Chip Kit (HS12/HS24)
(PCR Reagents)**

CE

IVD

REF MAD-003936M-P-HS-48 (48 tests)

LOT SEP022

03/2019

2°C 8°C



EAN:8435421210127



(01)08435421210127(17)190331(10)SEP022

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Dr. MARIANA VILA PEREZ
ARODERADA
BioSystems S.A.

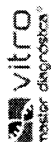
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Componentes para PCR – 48 determinaciones

internos

Mix 1 Multiplex PCR



REF MAD-003936M-MIX1-HS (8 test)

LOT SE022

03/2019

20/8°C

CE

IVD

Mix 2 Multiplex PCR



REF MAD-003936M-MIX2-HS (8 test)

LOT SE022

03/2019

20/8°C

CE

IVD

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503


Producto para Diagnostico de uso In Vitro

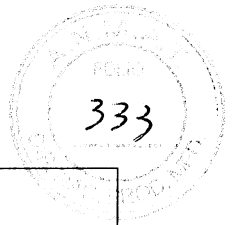
Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANA VELA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Componentes para hibridación x 48 determinaciones

Externo



**Sepsis Flow Chip Kit (HS12)
(Hybridization Reagents)**



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

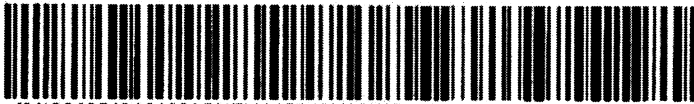
REF MAD-003938M-H-HS12-48 (48 tests)

LOT SEH057

05/2019 2°C / 8°C



EAN:8436421210036



(01)08436421210036(17)190531(10)SEH057

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 - 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

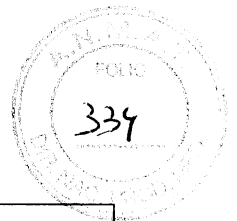
Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Componentes para hibridacion internos x 4 determinaciones

Internos

Hybridization Solution (Reagent A)
vitro in vitro diagnostic
REF MAD-003930MA-HS12-48 (48 tests)
LOT A057
08/2019 zc ^{90C}
CE
IVD

Reagent E
vitro in vitro diagnostic
REF MAD-003930ME-HS12-48 (48 tests)
LOT E048
08/2019 zc ^{90C}
CE
IVD

Blocking Solution (Reagent B)
vitro in vitro diagnostic
REF MAD-003930MB-HS12-48 (48 tests)
LOT B046
07/2019 zc ^{90C}
CE
IVD

Washing Buffer II (Reagent F)
vitro in vitro diagnostic
REF MAD-003930MF-HS12-48 (48 tests)
LOT F042
07/2019 zc ^{90C}
CE
IVD

Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)
vitro in vitro diagnostic
REF MAD-003930MC-HS12-48 (48 tests)
LOT C072
03/2019 zc ^{90C}
CE
IVD

Sepsis Chip (HS)
vitro in vitro diagnostic
REF MAD-003935M-CH-HS-24 (24 units)
LOT SEP E034
05/2019 zc ^{90C}
CE
IVD

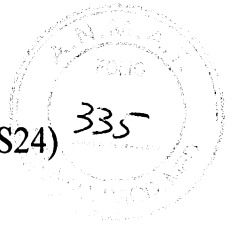
Washing Buffer I (Reagent D)
vitro in vitro diagnostic
REF MAD-003930MD-HS12-48 (48 tests)
LOT D051
07/2019 zc ^{90C}
CE
IVD

Importado por:
BioSystems S.A.
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (54-11) 4854 – 7775
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503
Producto para Diagnostico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA MIA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ROTULADO - SEPSIS CNS Flow Chip Kit parahyriSpot24 (HS24)



Todos los componentes del kit se suministran en dos cajas separadas que contienen respectivamente los reactivos de PCR y los reactivos de hibridación.

PARA 24 DETERMINACIONES

Externo



Sepsis Flow Chip Kit (HS24)

CE

IVD

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

REF MAD-003936M-HS24-24 (24 tests)

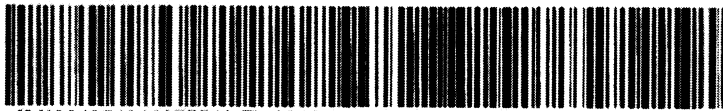
LOT SEPP022+H055

01/2019

8°C



EAN:8435421207554



(01)08435421207554(17)190131(10)SEPP022+H055

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 - 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

336

Componentes para PCR – 24 determinaciones

EXTERNOS



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

**Sepsis Flow Chip Kit (HS12/HS24)
(PCR Reagents)**

CE

IVD

REF MAD-003936M-P-HS-24 (24 tests)

LOT SEPP023

05/2019

2°C 8°C



EAN:8435421210110



(01)08435421210110(17)190531(10)SEPP023

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

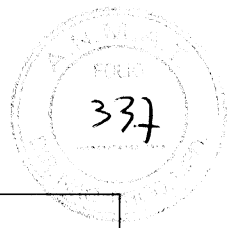
Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Dra. MARIANA VILA
APODERADA
BioSystems S.A.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Componentes para PCR – 24 determinaciones

internos

Mix 1 Multiplex PCR



REF MAD-003936M-MIX1-HS (8 test)

LOT SE023

05/2019

20/8°C

CE

IVD

Mix 2 Multiplex PCR



REF MAD-003936M-MIX2-HS (8 test)

LOT SE023

05/2019

20/8°C

CE

IVD

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Componentes para hibridación x 24 determinaciones

Externo



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

**Sepsis Flow Chip Kit (HS24)
(Hybridization Reagents)**

CE

IVD

REF MAD-003936M-H-HS24-24 (24 tests)

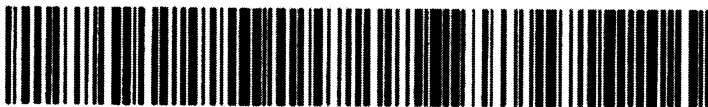
LOT SEH057

05/2019

2°C / 8°C



EAN:8435421212077



(01)08435421212077(17)190531(10)SEH057



A02664

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 - 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

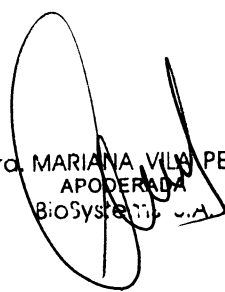
Uso Profesional Exclusivo

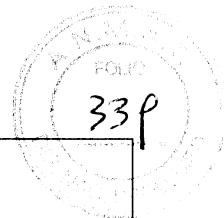
Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILMA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

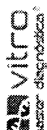




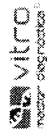
Componentes para hibridacion internos x 4 determinaciones

Internos

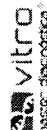
Hybridization Solution (Reagent A)

 **REF** MAD-003930MA-HS24-24 (24 tests)
LOT A057
 08/2019 2°C 8°C
 CE
 IVD

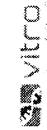
Washing Buffer I (Reagent D)

 **REF** MAD-003930MD-HS24-24 (24 tests)
LOT D051
 07/2019 2°C 8°C
 CE
 IVD


Blocking Solution (Reagent B)

 **REF** MAD-003930MB-HS24-24 (24 tests)
LOT B046
 07/2019 2°C 8°C
 CE
 IVD


Reagent E

 **REF** MAD-003930ME-HS24 (24 tests)
LOT E046
 08/2019 2°C 8°C
 CE
 IVD

Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)

 **REF** MAD-003930MC-HS24-24 (24 tests)
LOT C074
 08/2019 2°C 8°C
 CE
 IVD

Sepsis Chip

 **REF** MAD-003936M-CH-HS (units)
LOT SEPE034
 05/2019 2°C 8°C
 CE
 IVD

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

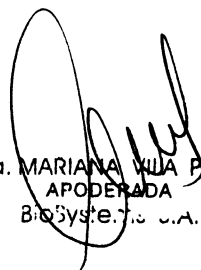
Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

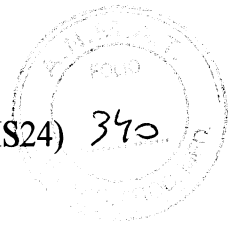
Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARIANA VIZA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

ROTULADO - SEPSIS CNS Flow Chip Kit parahybriSpot24 (HS24) 340



Todos los componentes del kit se suministran en dos cajas separadas que contienen respectivamente los reactivos de PCR y los reactivos de hibridación.

PARA 48 DETERMINACIONES

Externo



Sepsis Flow Chip Kit (HS24)

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Edificio Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

CE

IVD

REF MAD-003036M-HS24-48 (48 tests)

LOT SEP022+H056

03/2019 8°C

2°C



EAN:8435421210066



(01)08435421210066(17)190331(10)SEP022+H056

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 - 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

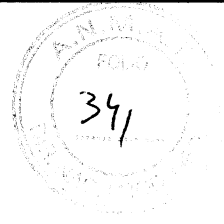
Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA REREZ
APCORDERA
BioSys. S.A.



Componentes para PCR – 48 determinaciones

EXTERNOS



**Sepsis Flow Chip Kit (HS12/HS24)
(PCR Reagents)**

CE

IVD

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 63
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

REF MAD-003936M-P-HS-48 (48 tests)

LOT SEP022

03/2019

20/8°C



EAN:8435421210127



(01)08435421210127(17)190331(10)SEP022

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT


Certificado N°:


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Componentes para PCR – 48 determinaciones

internos

Mix 1 Multiplex PCR
 **REF** MAD-003936M-MIX1-HS (8 test)
LOT SE023
05/2019 *2018* ^{8°C}
CE
IVD

Mix 2 Multiplex PCR
 **REF** MAD-003936M-MIX2-HS (8 test)
LOT SE023
05/2019 *2018* ^{8°C}
CE
IVD

Importado por:
BioSystems S.A.
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (54-11) 4854 – 7775
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503
Producto para Diagnostico de uso In Vitro
Uso Profesional Exclusivo
Autorizado por ANMAT
Certificado N°:

(Signature)
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

(Signature)
Dña. MARIANA VILA BEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

343

Componentes para hibridación x 48 determinaciones

Externo



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

Sepsis Flow Chip Kit (HS24)
(Hybridization Reagents)



REF MAD-003936M-H-HS24-48 (48 tests)

LOT SEH057

05/2019

2°C / 8°C



EAN:8435421210042



(01)08435421210042(17)190531(10)SEH057



A02665

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 - 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

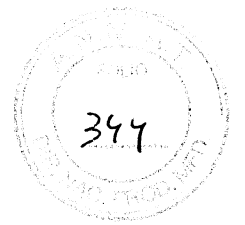
Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

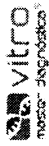
Dra. MARIANA WLA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



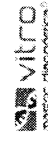
Componentes para hibridacion internos x 4 determinaciones

Internos

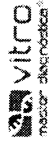
Hybridization Solution (Reagent A)

 **REF** MAD-003930MA-HS24-48 (48 tests)
LOT A056
07/2019 *zc* ^{90C} **CE**
IVD

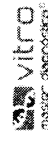

Reagent E

 **REF** MAD-003930ME-HS24-48 (48 tests)
LOT E047
06/2019 *zc* ^{90C} **CE**
IVD

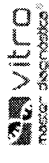
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)

 **REF** MAD-003930MC-HS24-48 (48 tests)
LOT C073
06/2019 *zc* ^{90C} **CE**
IVD

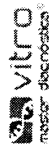
Sepsis Chip (HS)

 **REF** MAD-003936M-CH-HS-24 (24 units)
LOT SEP-E034
05/2019 *zc* ^{90C}  **CE**
IVD

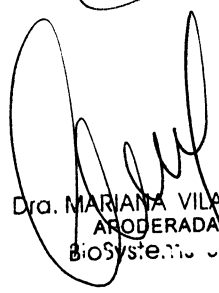
Blocking Solution (Reagent B)

 **REF** MAD-003930MB-HS24-48 (48 tests)
LOT B046
07/2019 *zc* ^{90C} **CE**
IVD

Washing Buffer I (Reagent D)

 **REF** MAD-003930MD-HS24-48 (48 tests)
LOT D051
07/2019 *zc* ^{90C} **CE**
IVD

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANA VILA PEREZ
ARODERADA
BioSystems S.A.



Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854 – 7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

Certificado N°:

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dña. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: Rot, e, Ins, de Uso- BIOSYSTEMS S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 57 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.03.17 11:34:54 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.03.17 11:34:55 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-47-3110-4600-17-2

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-3110-4600-17-2

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por BIOSYSTEMS S.A., se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto para diagnóstico de uso in vitro con los siguientes datos característicos:

NOMBRE COMERCIAL: 1) SEPSIS FLOW CHIP KIT (HS12); 2) SEPSIS FLOW CHIP KIT (HS24).

INDICACIÓN DE USO: 1) y 2) KIT DISEÑADO PARA LA DETECCIÓN DE INFECCIONES NOSOCOMIALES EN HUMANOS BASADO EN PCR MULTIPLEX E HIBRIDACIÓN REVERSA, PARA LA DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE BACTERIAS, HONGOS Y LOS PRINCIPALES GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS, MEDIANTE TECNOLOGÍA DNA-FLOW PARA PLATAFORMAS hybriSpot, TANTO AUTOMÁTICA COMO MANUAL.

FORMA DE PRESENTACIÓN: ENVASES POR 24 o 48 DETERMINACIONES, CONTENIENDO:

Reactivos para PCR múltiple:

Reactivos	24 determinaciones	48 determinaciones
Mix 1 Multiplex PCR	3 strips x 8 tubes	6 strips x 8 tubes
Mix 2 Multiplex PCR	3 strips x 8 tubes	6 strips x 8 tubes

Reactivos para hibridación reversa:

Reactivos	24 determinaciones	48 determinaciones
Hybridization Solution (Reagent A)	40 ml	80 ml
Blocking Solution (Reagent B)	10 ml	18 ml
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)	10 ml	18 ml
Washing Buffer I (Reagent D)	35 ml	70 ml
Reagent E	10 ml	18 ml
Washing Buffer II (Reagent F)	18 ml	35 ml
Sepsis Chip	24 unidades	2 x 24 unidades

Reactivos	24	48
-----------	----	----

	determinaciones	determinaciones
Hybridization Solution (Reagent A)	60 ml	115 ml
Blocking Solution (Reagent B)	10 ml	18 ml
Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)	10 ml	18 ml
Washing Buffer I (Reagent D)	35 ml	70 ml
Reagent E	10 ml	18 ml
Sepsis Chip	24 unidades	2 x 24 unidades

PERÍODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIÓN DE CONSERVACIÓN: DIECIOCHO (18) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8 °C.

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: VITRO SA. C/ Luis Fuentes Bejarano 60, Edificio nudo norte, local 3. 41020, Sevilla. (ESPAÑA).

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: Venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-626-97.

Expediente Nº 1-47-3110-4600-17-2.

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica

Date: 2022.05.12 17:02:42 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica

Date: 2022.05.12 17:02:43 -03:00