



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Disposición

Número:

Referencia: EX-2021-49769902-APN-DGA#ANMAT

VISTO el EX-2021-49769902-APN-DGA#ANMAT del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOMERIEUX ARGENTINA S.A. solicita autorización para la venta del Producto médico para diagnóstico *in vitro* denominado **ARGENE® HSV1&2 VZV R-GENE®**.

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 en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos Médicos para Diagnóstico *in vitro* que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia y corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico para diagnóstico *in vitro* 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) del producto médico para diagnóstico *in vitro* denominado **ARGENE® HSV1&2 VZV R-GENE®** de acuerdo con lo solicitado por la firma BIOMERIEUX ARGENTINA S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulos y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-22648282-APN-INPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM-1149-279”, con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

NOMBRE COMERCIAL: ARGENE® HSV1&2 VZV R-GENE®.

INDICACION DE USO: diseñado para lo siguiente utilizando la técnica de amplificación PCR en tiempo real después de la extracción de ADN viral: Detectar y/o cuantificar y diferenciar los genomas virales HSV1 y HSV2 en sangre total, plasma sanguíneo, líquido cefalorraquídeo y lavado broncoalveolar. Detectar y diferenciar los genomas virales HSV1 y HSV2 en frotis de garganta y mucocutáneo. Detectar y/o cuantificar el genoma viral VZV en sangre total, plasma sanguíneo y líquido cefalorraquídeo. Detectar el genoma viral VZV en frotis mucocutáneo. En combinación con otros métodos de investigación biológica (diagnóstico por medio de imágenes, análisis bioquímico e inmunológico, etc.), los resultados obtenidos con el kit HSV1&2 VZV R-GENE® contribuyen al diagnóstico y el control de virus HSV1, HSV2 y VZV en pacientes cuyo estado patológico sugiera una infección por herpesviridae.

FORMA DE PRESENTACIÓN: 60 pruebas.

PERÍODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE PRESENTACIÓN: 18 meses. conservado a una temperatura -15 a -31°C, protegido de la luz.

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: bioMerieux S.A., 376 Chemin de l’Orme, 69280 Marcy l’Etoile, Francia.

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

EX-2021-49769902-APN-DGA#ANMAT

AM

Digitally signed by GARAY Valeria Teresa
Date: 2022.05.27 23:41:48 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.05.27 23:41:51 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: EX-2021-49769902-APN-DGA#ANMAT

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN

PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO

N° EX-2021-49769902-APN-DGA#ANMAT

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

NOMBRE COMERCIAL: ARGENE® HSV1&2 VZV R-GENE®.

INDICACION DE USO: diseñado para lo siguiente utilizando la técnica de amplificación PCR en tiempo real después de la extracción de ADN viral: Detectar y/o cuantificar y diferenciar los genomas virales HSV1 y HSV2 en sangre total, plasma sanguíneo, líquido cefalorraquídeo y lavado broncoalveolar. Detectar y diferenciar los genomas virales HSV1 y HSV2 en frotis de garganta y mucocutáneo. Detectar y/o cuantificar el genoma viral VZV en sangre total, plasma sanguíneo y líquido cefalorraquídeo. Detectar el genoma viral VZV en frotis mucocutáneo. En combinación con otros métodos de investigación biológica (diagnóstico por medio de imágenes, análisis bioquímico e inmunológico, etc.), los resultados obtenidos con el kit HSV1&2 VZV R-GENE® contribuyen al diagnóstico y el control de virus HSV1, HSV2 y VZV en pacientes cuyo estado patológico sugiera una infección por herpesviridae.

FORMA DE PRESENTACIÓN: 60 pruebas.

PERÍODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE PRESENTACIÓN: 18 meses. conservado a una temperatura -15 a -31°C, protegido de la luz. **NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE:** bioMerieux S.A., 376 Chemin de l'Orme, 69280 Marcy l'Etoile, Francia.

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: Venta exclusiva 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 N° -1149-279. -----

N° EX-2021-49769902-APN-DGA#ANMAT

AM

Digitally signed by GARAY Valeria Teresa
Date: 2022.05.24 09:10:00 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

RÓTULO

ARGENE

ARGENE® HSV1&2 VZV R-GENE®

REF 69-014B

IVD **CE**

 120 

-31°C  -15°C

 2017-02-02

LOT 1007756800

 2019-12-03

R21	2 x 450 µL	1570440	SC	1 x 300 µL	1570500
R22	2 x 450 µL	1570450	IC2	1 x 1 mL	1004120070
QS1	1 x 300 µL	1570460	W0	2 x 1.8 mL	1277540
QS2	1 x 300 µL	1570470			
QS3	1 x 300 µL	1570480			
QS4	1 x 300 µL	1570490			



(01)03573026605162
(17)170202
(10)1007756800



bioMérieux SA
376, Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France



049514-01
www.biomérieux.com/techlit

052801-01

Sobrerótulo:

Lote:

Vencimiento:

Establecimiento importador:

bioMérieux Argentina S.A. Arias 3751. Piso 3. Capital Federal.

Director Técnico: Maximiliano Milano- MN 16.718

Autorizado por ANMAT : 1149-279

USO PROFESIONAL -VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS



Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718



Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.841.903

ARGENE® HSV1&2 VZV R-GENE®



1. USO PREVISTO	1
2. CONTEXTO CIENTÍFICO	1
3. PRINCIPIO DE LA PRUEBA	2
4. CONTENIDO DEL KIT Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	4
5. REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS	5
6. PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN	5
7. TRANSPORTE, PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS	6
8. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS	7
9. PROTOCOLO DE DETECCIÓN/CUANTIFICACIÓN EN TIEMPO REAL	9
10. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	12
11. VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	15
12. PRESTACIONES	16
13. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	32
14. BIBLIOGRAFÍA	37
15. TABLA DE SÍMBOLOS	38
16. GARANTÍA LIMITADA	38
17. HISTÓRICO DE REVISIONES	38

Kit de detección y cuantificación en tiempo real, HSV1&2 VZV R-GENE®

Kit de detección y cuantificación en tiempo real, HSV1&2 VZV R-GENE®

1. USO PREVISTO

El kit HSV1&2 VZV R-GENE® está diseñado para lo siguiente utilizando la técnica de amplificación PCR en tiempo real después de la extracción de ADN viral:

- Detectar y/o cuantificar y diferenciar los genomas virales HSV1 y HSV2 en sangre total, plasma sanguíneo, líquido cefalorraquídeo y lavado broncoalveolar.
- Detectar y diferenciar los genomas virales HSV1 y HSV2 en frotis de garganta y mucocutáneo.
- Detectar y/o cuantificar el genoma viral VZV en sangre total, plasma sanguíneo y líquido cefalorraquídeo.
- Detectar el genoma viral VZV en frotis mucocutáneo.

En combinación con otros métodos de investigación biológica (diagnóstico por medio de imágenes, análisis bioquímico e inmunológico, etc.), los resultados obtenidos con el kit HSV1&2 VZV R-GENE® contribuyen al diagnóstico y el control de virus HSV1, HSV2 y VZV en pacientes cuyo estado patológico sugiera una infección por *herpesviridae*.

Este kit está indicado únicamente para diagnóstico *in vitro* realizado en laboratorios clínicos por parte de profesionales sanitarios.

Limitación de la prueba:

Este kit no se puede utilizar para screening de donantes.

2. CONTEXTO CIENTÍFICO

Herpesviridae es una familia de virus ADN responsable de una amplia gama de infecciones en humanos. La infección primaria suele estar limitada a las membranas mucosas y la piel. Después de la infección primaria, el virus puede persistir de forma latente en el receptor y, con inmunosupresión crónica o transitoria, se puede reactivar para desarrollar infecciones recurrentes.

Hay ocho tipos de *herpesviridae* humano, de los cuales el virus Herpes Simplex tipo 1 (HSV1) y tipo 2 (HSV2) y el virus Varicella zoster (VZV) son los más comunes en pacientes inmunocompetentes. Aunque la mayoría de esos virus suelen


Farm. Maximiliano Milano
 Director Técnico
 bioMérieux Argentina S.A.
 M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 1


Gabriel Mariano De León
 bioMérieux Argentina S.A.
 APODERADO
 DNI 27.941.903

ser benignos, las infecciones provocadas por ellos pueden adoptar formas clínicas graves como encefalitis, meningitis, retinitis o infecciones neonatales.

Durante muchos años, diversos antivirales han demostrado su efectividad en el tratamiento de estas enfermedades, siempre que se prescriban a la dosis adecuada y al principio del tratamiento. Por lo tanto, es esencial que esas infecciones graves se diagnostiquen lo antes posible.

Entre las formas más graves de infección por HSV1, HSV2 o VZV en adultos, la encefalitis herpética necrotizante causada por HSV1, que representa 1/250 000 a 1/1 000 000 casos al año, aún puede ser fatal debido a la falta de tratamiento. La encefalitis causada por HSV2 o VZV generalmente se considera menos grave. Cuando la encefalitis neonatal está presente en neonatos, hay presencia de virus HSV1 y HSV2, pero es el virus HSV2 el que es responsable de los trastornos neurológicos más graves. Finalmente, durante mucho tiempo el VZV se ha asociado a la encefalitis en pacientes inmunodeprimidos. Gracias a las técnicas de detección del genoma viral, se ha demostrado progresivamente que este virus causa infecciones de tipo meningoencefalitis en individuos inmunocompetentes.

Aunque el cultivo convencional y las técnicas de detección inmunológica se adaptan al diagnóstico de infecciones cutáneas benignas de las que estos virus son responsables, estas técnicas no son adecuadas para infecciones graves del sistema nervioso central e infecciones congénitas. De hecho, esto se debe al retraso en la obtención de resultados y a la falta de sensibilidad de estas técnicas inmunológicas.

3. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

3.1. Tipos de muestra

Los tipos de muestras validados con este kit son los siguientes:

Para detección cuantitativa y cualitativa:

- Sangre total para HSV1, HSV2 y VZV
- Plasma sanguíneo para HSV1, HSV2 y VZV
- Líquido cefalorraquídeo (LCR) para HSV1, HSV2 y VZV
- Lavado broncoalveolar (BAL) para HSV1 y HSV2

Para detección cualitativa:

- Frotis de garganta para HSV1 y HSV2
- Frotis anogenital para HSV1 y HSV2
- Frotis cutáneos y anogenitales para HSV1, HSV2 y VZV

3.2. Extracción de ácido nucleico

Los sistemas de extracción validados con este kit son los siguientes:

- EMAG®
- NUCLISENS® easyMAG®
- MagNA Pure 96
- QIAasymphony SP

3.3. Amplificación y detección en tiempo real

Principio

La PCR en tiempo real se basa en la amplificación de ciertas regiones del genoma de interés. La detección se realiza utilizando la técnica de sonda de hidrólisis de nucleasa de 5'.

La mezcla de amplificación y detección lista para usar contiene los dNTP, el tampón de amplificación, la polimerasa Taq, los cebadores y sondas específicos para HSV1 y HSV2 (para la premezcla de amplificación **R21**) y VZV (para la premezcla de amplificación **R22**) y los cebadores y las sondas específicos para el control interno.

Secuencias amplificadas

Los cebadores empleados en la premezcla de amplificación **R21** permiten la amplificación del gen US7 para HSV1 y del gen UL27 para HSV2. El tamaño del fragmento amplificado es de 142 bp para HSV1 y 134 bp para HSV2.

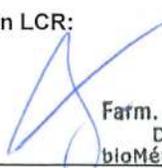
Los cebadores empleados en la premezcla de amplificación **R22** permiten la amplificación del gen que codifica la proteína gp19 para VZV. El tamaño del fragmento amplificado es de 172 pb.

Intervalo de cuantificación

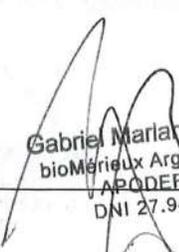
En sangre total y plasma sanguíneo (para HSV1, HSV2 y VZV): el rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® está entre 500 y 1,0E+08 copias/mL (es decir, entre 2,7 log₁₀ y 8,0 log₁₀ copias/mL).

En LBA (solo para HSV1 y HSV2): el rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® está entre 500 y 1,0E+08 copias/mL (es decir, entre 2,7 log₁₀ y 8,0 log₁₀ copias/mL).

En LCR:


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 2


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

- Para HSV1: el rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® se incluye entre 250 y 1,0E+08 copias/mL (por ej., entre 2,4 log₁₀ y 8,0 log₁₀ copias/mL).
- Para HSV2: el rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® se incluye entre 100 y 1,0E+08 copias/mL (por ej., entre 2,0 log₁₀ y 8,0 log₁₀ copias/mL).
- Para VZV: el rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® se incluye entre 500 y 1,0E+08 copias/mL (por ej., entre 2,7 log₁₀ y 8,0 log₁₀ copias/mL).

Los resultados obtenidos se expresan en forma de número de copias/mL de muestra. Los resultados se validan mediante un control de extracción, un control de inhibición y un control negativo que se suministran con el kit.

Plataformas de amplificación validadas

- Applied Biosystems
 - 7500 Fast⁽¹⁾
 - 7500 Fast Dx⁽¹⁾
 - QuantStudio 5 (bloques para placas de 96 pocillos de 0,1 mL y 0,2 mL)⁽¹⁾
 - QuantStudio 5 Dx⁽¹⁾
- LightCycler 480 (System II)
- CFX96
- Rotor-Gene Q

⁽¹⁾ Procesar solamente en el modo **Fast**.

ATENCIÓN: Las prestaciones técnicas descritas se han validado y están garantizadas si el kit se utiliza con las técnicas de extracción y plataformas de amplificación que se describen en la ficha técnica. Para seguir la evolución de la carga viral en las muestras de un paciente después de la prueba, es necesario que los análisis sucesivos de las muestras se realicen siguiendo el mismo protocolo y con las mismas combinaciones de instrumentos de extracción y amplificación.

3.4. Controles

3.4.1. Controles de extracción + inhibición

3.4.1.1. Control de extracción + inhibición de muestras (IC2sample)

- Este control consiste en un control interno **IC2** que se añade a las muestras de pacientes, se extrae y se amplifica para comprobar la eficacia de la extracción y detectar la posible presencia de inhibidores.
- Su señal se detecta a **560 nm**.

3.4.1.2. Control de extracción + inhibición de referencia (IC2W0)

- Este control consiste en el control interno **IC2** que se añade al control de extracción negativo (**W0**), extraído y amplificado a la vez que las muestras de pacientes para obtener una referencia (**IC2W0**) para cada extracción. Los resultados se deben comparar con los controles de extracción/ inhibición de las muestras del paciente (**IC2sample**).
- Su señal se detecta a **560 nm**.

⇒ La comparación de los valores de Ct (umbral de ciclo) de **IC2W0** y **IC2sample** a **560 nm** se utiliza para evaluar la eficacia de la extracción y para detectar posibles inhibidores.

Nota: Una muestra extraída con el control interno **IC2** de este kit se puede probar con otro kit de la gama de productos ARGENE®. El **IC2** utilizado con **W0** y la muestra deben proceder del mismo lote.

3.4.2. Controles negativos de extracción + amplificación (IC2W0)

- Se trata del mismo tubo que el descrito en la sección **REFERENCIA DE EXTRACCIÓN + CONTROL DE INHIBICIÓN** pero, cuando se hace la lectura a **530 nm** y **670 nm**, constituye un control negativo que permite comprobar la ausencia de contaminación en la extracción y en la amplificación.
- Su señal se detecta a **530 nm** y **670 nm** (cuando se emplea la premezcla de amplificación **R21**) y a **530 nm** (cuando se emplea la amplificación **R22**).

3.4.3. El intervalo estándar (QS1, QS2, QS3 y QS4)

- Es imprescindible usar la gama de intervalos estándar suministrada con el kit para la cuantificación de muestras.
- Los estándares de cuantificación se usan para obtener una curva estándar a partir de la cual se calcula la carga viral del patógeno objetivo.
- Los estándares de cuantificación se amplifican con una premezcla de amplificación **R21** para HSV1 y HSV2 y premezcla de amplificación **R22** para VZV.
- Cada uno de los cuatro puntos de la gama estándar consiste en un plásmido específico del patógeno objetivo. No se debe extraer.

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N. 16.718

bioMérieux SA Español - 3

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

- Las concentraciones de los estándares de cuantificación oscilan entre 5000 copias/μL (**QS1**) a 5 copias/μL (**QS4**).
- Los estándares de cuantificación se deben designar como "estándares" y sus concentraciones respectivas se deben especificar durante el registro de las muestras en el programa de análisis de los datos.
- La señal QS se detecta a **530 nm** para HSV1 y VZV, y a **670 nm** para HSV2.

3.4.4. Estándar de cuantificación (QS3)

- La prueba estándar **QS3** permite evitar la generación de una curva patrón nueva para cada serie de la prueba.
Nota: Considere la posibilidad de importar una curva estándar a los termocicladores validados con este kit.
- Solo se puede importar la curva patrón mediante **QS3** utilizando kits con un mismo número de lote y siempre que el tiempo transcurrido entre la ejecución de la prueba y la importación de la curva estándar sea inferior a tres meses.
- Su señal se detecta a **530 nm** para HSV1 y VZV, y a **670 nm** para HSV2.

Nota: En caso de tratarse de una detección cualitativa, el **QS3** servirá como control positivo para comprobar el correcto desarrollo de la fase de amplificación.

3.4.5. Control de sensibilidad (SC)

- El control de sensibilidad (**SC**) imita un eluido con baja positividad. Por esta razón, podría dar ocasionalmente un resultado negativo. Permite a los laboratorios supervisar el procedimiento de amplificación del ensayo a lo largo del tiempo e identificar posibles desviaciones. No se debe extraer.
- El control de sensibilidad (**SC**) se amplifica con su premezcla de amplificación apropiada.
- El uso de este control es opcional.
- Su señal se detecta a **530 nm** para HSV1 y VZV, y a **670 nm** para HSV2.

3.4.6. Trazabilidad metrológica

La trazabilidad metrológica de los estándares de cuantificación (QS) HSV1&2 VZV R-GENE® se lleva a cabo probando los estándares de cuantificación frente a una referencia interna.

4. CONTENIDO DEL KIT Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Pruebas HSV1&2 VZV R-GENE® ref. 69-014B

Número de pruebas: 60 para HSV1 y HSV2, 60 pruebas para VZV

Antes y después de abrir el kit, es necesario almacenar los reactivos a -15 °C/-31 °C.

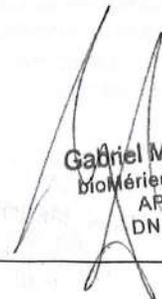
Una vez descongelado, es necesario utilizar un bloque frío (+2 °C/+8 °C) para manipular los reactivos.

Es necesario homogeneizar todos los reactivos antes de usarlos.

Después de su uso, es necesario almacenar los reactivos a -15 °C/-31 °C.



Farm. Maximiliano Milano
Director
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718



Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

Denominación	Nombre	Composición	Presentación	Condiciones de almacenamiento
W0	Agua (grado molecular)	-	2 x 1,8 mL	-
IC2 (azul)	Control interno 2	ADN encapsulado	1 x 1 mL	El IC2 no soporta más de 50 ciclos de congelación/ descongelación. Es estable hasta seis horas a $\leq +30$ °C. Posteriormente se recomienda realizar alícuotas del control interno.
QS1 hasta QS4 (de púrpura oscuro a blanco)	Estándares de cuantificación HSV1, HSV2 y VZV	Mezcla de 3 plásmidos recombinantes	1 x 300 µL para cada QS QS1: 5000 copias/µL QS2: 500 copias/µL QS3: 50 copias/µL QS4: 5 copias/µL	QS y SC no toleran más de 30 ciclos de congelación/ descongelación.
SC (gris)	Control de sensibilidad HSV1, HSV2 y VZV	Mezcla de 3 plásmidos recombinantes	1 x 300 µL SC: 1 copia/µL	
R21 (rojo)	Premezcla de amplificación para HSV1, HSV2 y IC2	Contiene dNTPs, MgCl ₂ , tampón de amplificación, cebadores y sondas para los objetivos de la prueba, polimerasa Taq	2 x 450 µL	La premezcla de amplificación (R21) no tolera más de 10 ciclos de congelación/ descongelación y se debe conservar protegida de la luz.
R22 (amarillo)	Premezcla de amplificación para VZV e IC2	Contiene dNTPs, MgCl ₂ , tampón de amplificación, cebadores y sondas para el objetivo de la prueba, polimerasa Taq	2 x 450 µL	La premezcla de amplificación (R22) no tolera más de 10 ciclos de congelación/ descongelación y se debe conservar protegida de la luz.

1 Ficha técnica suministrada en el equipo o a descargar en www.biomerieux.com/techlib.

5. REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Sistemas de extracción validados con el kit; siga las instrucciones del fabricante (consulte la sección *PRINCIPIO DE LA PRUEBA*).
- Plataformas de amplificación validadas con el kit (consulte la sección *PRINCIPIO DE LA PRUEBA*).
- Centrifugadora adaptada a la plataforma de amplificación.
- Tubos o placas adecuados para la plataforma de amplificación en tiempo real validada con el kit.
- Bloque frío adecuado para la plataforma de amplificación validada con el kit.
- Luz ultravioleta.
- Estación de trabajo o pantalla de plexiglás para la distribución de las premezclas y de las muestras.
- Micropipetas y puntas con filtro estériles adecuadas para el volumen que se vaya a dispensar.

6. PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

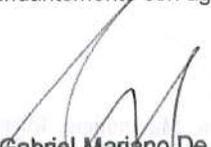
- El kit lo debe manejar personal cualificado de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio y las instrucciones de manipulación para biología molecular.
- Lea todas las instrucciones antes de empezar.

6.1. Precauciones generales de utilización

- Evite cualquier contacto entre los reactivos y la piel. En caso de contacto, lavar abundantemente con agua.


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 5


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

- Las muestras se deben preparar en una campana de seguridad biológica.
- Este equipo contiene compuestos de origen animal. El origen y/o el estado sanitario de los animales no pueden garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible; se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (no ingerir; no inhalar).
- Los reactivos no utilizados pueden eliminarse como residuos no peligrosos. Eliminar los reactivos usados, así como los materiales desechables contaminados siguiendo los procedimientos relativos con los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables.

- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

6.2. Precauciones de utilización para la biología molecular

- Para los procedimientos de amplificación se necesitan técnicas muy desarrolladas con las que evitar el riesgo de contaminación de las muestras:
 - Las fases de preparación de reactivos, preparación de muestras y amplificación deben desarrollarse en zonas de trabajo separadas. Asigne un juego de batas de laboratorio y pipetas a cada zona. No introduzca nunca un producto amplificado en las zonas de preparación de reactivos o muestras.
 - Las pipetas utilizadas para manejar las muestras se deben reservar para este fin solamente. Estas pipetas deben ser pipetas de desplazamiento positivo o pipetas equipadas con puntas con filtro. Todas las puntas deben estar esterilizadas.
 - Las pipetas empleadas para preparar y distribuir los reactivos se deben reservar también para este fin solamente.
 - En el caso de un uso manual, no se deben abrir nunca los tubos con distintas muestras y distintas premezclas de amplificación a la vez.
 - Las muestras usadas se deben reservar exclusivamente para este análisis.
- No intercambie los reactivos de kits con números de lote distintos.
 - Una muestra extraída con el control interno IC2 de este kit se puede probar con otro kit de la gama de productos ARGENE®.
- No sustituya los reactivos por otros de diferentes fabricantes.
- No utilice los reactivos del kit de amplificación si están descongelados en el momento de recibirlos.
- Los reactivos deberán descongelarse completamente entre a +18 °C/+25 °C antes de utilizarlos y ser homogeneizados.
- Una vez descongelado, es necesario utilizar un bloque frío (+2 °C/+8 °C) para manipular los reactivos.
- Realice el mantenimiento preventivo de las estaciones de trabajo, los sistemas de extracción automáticos, las plataformas de amplificación y los sistemas de centrifugación según las recomendaciones del fabricante.

7. TRANSPORTE, PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

- Si se utilizan procedimientos de recogida, tratamiento, almacenamiento o transporte incorrectos, se podrían obtener resultados erróneos.
- Es necesario recoger las muestras según las instrucciones del laboratorio y transportarlas conforme a las normativas locales.
- El laboratorio debe transportar y tratar las muestras en el menor tiempo posible (preferiblemente en 24 horas).
- Las muestras deben ser transportadas en medios compatibles con las pruebas de biología molecular.

7.1. Líquido cefalorraquídeo (LCR)

- El LCR se recoge mediante punción lumbar estándar.
- Si las muestras no se procesan a la llegada, deben congelarse a -15 °C/-31 °C o a ≤-60 °C durante 4 meses como máximo, con un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación.

7.2. Muestra respiratoria

• Lavado de líquido broncoalveolar (LBA)

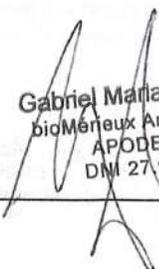
Si las muestras no se procesan a la llegada, deben congelarse en alícuotas a ≤-60 °C durante un máximo de 4 meses sin ciclos de congelación/descongelación. Se ha comprobado que la congelación de las muestras puede deteriorar las muestras ligeramente positivas e impedir la detección de patógenos.

• Exudados laríngeos



Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 6



Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DM 27.941.903

ATENCIÓN: El cliente debe seguir las recomendaciones del proveedor de frotis. Por ejemplo, el frotis no se debe utilizar si el color del medio ha cambiado a naranja claro. Esta información se basa en estudios de estabilidad realizados con frotis de COPAN empleando el Medio de transporte universal RT.

Si las muestras no se procesan a la llegada, se pueden almacenar:

- 6 horas a +18 °C/+25 °C
- 72 horas a +2 °C/+8 °C
- 4 meses a -15 °C/-31 °C o ≤-60 °C con un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación.

7.3. Sangre total

ATENCIÓN: El uso de muestras de sangre recogidas en tubos heparinizados es incompatible con un análisis por amplificación génica. Los tubos de obtención de muestras sanguíneas contienen citrato, que puede provocar pérdida de señal durante la detección de los productos amplificados.

La sangre total se debe recoger en tubos con EDTA.

Es necesario recoger todas las muestras de sangre utilizando las precauciones universales de venopunción. Utilice el volumen de muestra adecuado para garantizar un cociente óptimo de sangre/aditivo.

- Antes de proceder a la extracción, es necesario homogeneizar las muestras de sangre invirtiéndolas manualmente o con un agitador automático. Alícuote la muestra en una campana de seguridad biológica.
- Si las muestras no se procesan a la llegada, se pueden almacenar:
 - 72 horas a +18 °C/+25 °C
 - 8 días a +2 °C/+8 °C
 - 4 meses a -15 °C/-31 °C o ≤-60 °C con un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación.

7.4. Plasma sanguíneo

ATENCIÓN: El uso de muestras de sangre recogidas en tubos heparinizados es incompatible con un análisis por amplificación génica. Los tubos de obtención de muestras sanguíneas contienen citrato, que puede provocar pérdida de señal durante la detección de los productos amplificados.

- El plasma sanguíneo debe provenir de la sangre recogida en tubos con EDTA y debe tratarse de la forma siguiente: La sangre debe centrifugarse lo antes posible (el día de la recolección, si es posible) a 1200 x g durante diez minutos a +20 °C y debe decantarse bajo una campana de seguridad biológica en criotubos de hasta 2 mL (200 µL como mínimo).
- Si las muestras no se procesan a la llegada, se pueden almacenar:
 - 72 horas a +18 °C/+25 °C
 - 8 días a +2 °C/+8 °C
 - 4 meses a -15 °C/-31 °C o ≤-60 °C con un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación.

7.5. Frotis cutáneos y anogenitales

ATENCIÓN: El cliente debe seguir las recomendaciones del proveedor de frotis. Por ejemplo, el frotis no se debe utilizar si el color del medio ha cambiado a naranja claro. Esta información se basa en estudios de estabilidad realizados con frotis de COPAN empleando el Medio de transporte universal RT.

- Si las muestras no se procesan a la llegada, se pueden almacenar:
 - 6 horas a +18 °C/+25 °C
 - 72 horas a +2 °C/+8 °C
 - 4 meses a -15 °C/-31 °C o ≤-60 °C con un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación.

8. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

ATENCIÓN:

Antes de comenzar el proceso de extracción, compruebe que las muestras descongeladas y el reactivo IC2 estén homogeneizados.

8.1. Tratamientos previos necesarios antes de la extracción

8.1.1. Lavado de líquido broncoalveolar (LBA)

En caso de extracción con instrumentos NUCLISENS® easyMAG® y EMAG®, puede ser necesario realizar un tratamiento previo de las muestras (+ IC2) con proteinasa K, si se considera que son demasiado viscosas. En ese caso, añadir 10 µL de proteinasa K (20 mg/mL) por cada 200 µL de muestra e incubar durante 15 minutos a +56 °C.

8.1.2. Sangre total


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 7


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

Homogeneice la muestra invirtiéndola antes de cargarla en el sistema de extracción automático.

8.2. Protocolos de extracción validados con el kit

Se debe realizar el mantenimiento de estos instrumentos de extracción regularmente y por personal cualificado, conforme a las recomendaciones del fabricante.

Instrumentos	Kit	Muestra de la prueba	Tipo de muestra ⁽¹⁾	Protocolo	Volumen de elución
EMAG®	Reactivos de NUCLEISENS® easyMAG®	Muestra de 200 µL + 10 µL IC2 ⁽⁶⁾	Sangre total	B01/B50 ⁽²⁾	50 µL
			Plasma sanguíneo	B10/B30/B40 ⁽²⁾	
			LCR	B21/B23 ⁽²⁾	
			LBA Exudados laríngeos	B32/B42/B31/B41 ⁽²⁾	
			Frotis cutáneos y anogenitales	B32/B42/B31/B41 ⁽²⁾	
		muestra de 200 µL + 10 µL IC1 + 10 µL IC2 ^{(6) (7)}	LCR	B24/B25 ⁽²⁾	
Muestra de 400 µL + 10 µL IC2 ⁽⁶⁾	LBA Exudados laríngeos	B32/B42/B31/B41 ⁽²⁾	100 µL		
NUCLEISENS® easyMAG®	Reactivos de NUCLEISENS® easyMAG®	Muestra de 200 µL + 10 µL IC2	LCR	Genérico con 50 µL de sílice Específico B con 50 µL de sílice	50 µL
			Sangre total	Protocolo "Extracción de sangre total viral" Específico B con 140 µL de sílice ⁽⁶⁾	
			Plasma sanguíneo	Específico B con 50 µL de sílice	
			LBA Exudados laríngeos Frotis cutáneos y anogenitales	Específico B con 50 µL de sílice	
		muestra de 200 µL + 10 µL IC1 + 10 µL IC2 ⁽⁷⁾	LCR	Específico B con 50 µL de sílice Genérico con 50 µL de sílice	
		Muestra de 400 µL + 10 µL IC2	LBA Exudados laríngeos	Específico B con 50 µL de sílice	100 µL
MagNA Pure 96	DNA and Viral NA Small Volume kit	Muestra de 200 µL + 10 µL IC2	Sangre total	Viral NA Universal SV	100 µL
			Plasma sanguíneo		
QIASymphony SP	QIASymphony DSP DNA Mini Kit	Muestra de 200 µL + IC2 ^{(3) (6)}	Sangre total	VirusBlood200_DSP	90 µL (60 µL disponibles)
	Mini Kit QIASymphony DSP Virus/Patógeno	Muestra de 200 µL + IC2 ^{(4) (6)}	Plasma sanguíneo	CellFree200_DSP	90 µL (60 µL disponibles)

(1) Consulte la sección *TRATAMIENTOS PREVIOS NECESARIOS ANTES DE LA EXTRACCIÓN*, si corresponde.

(2) Consulte el código del método de extracción en el Manual de usuario del método de extracción EMAG®.

(3) Si se utiliza el instrumento QIASymphony SP con sangre total, es posible preparar en el momento una premezcla que contenga IC2 (ARGENE® BIOMÉRIEUX) y tampón ATE (Qiagen). Para una muestra, mezcle 50,5 µL de tampón ATE + 9,5 µL IC2.

(4) Al utilizar el instrumento QIASymphony SP con plasma sanguíneo, es posible preparar una premezcla con IC2 (ARGENE® BIOMÉRIEUX), portador de ARN (Qiagen) y tampón AVE (Qiagen) de forma extemporánea. Para una muestra, mezcle 108,5 µL de tampón AVE + 2,5 µL de portador de ARN + 9 µL IC2.

(5) Se debe preparar en el momento una premezcla compuesta por IC2, tampón de lisis y sílice, y añadirse a las muestras previamente repartidas en pocillos que contienen 2 mL de tampón de lisis. Para n muestras, mezcle 600 µL de tampón de lisis x (n+1) + 10 µL IC2 x (n+1) + 140 µL sílice x (n+1). Añada 740 µL de la mezcla a cada muestra. Para obtener más información, consulte la hoja de trabajo "Worksheet easyMAG® Viral Whole Blood extraction protocol" de BIOMÉRIEUX. La hoja de trabajo easyMAG® está disponible bajo petición. Póngase en contacto con el representante local de bioMérieux para ampliar la información.

(6) **Precaución:** En sistemas automáticos, tenga en cuenta el volumen muerto durante la ejecución de la prueba (muestra e IC) en función del tubo que se utilice. Si se utiliza un sistema automático de pipeteo, es posible reducir el número de reacciones posibles que incluyan IC a causa de las limitaciones impuestas por la automatización (por ej., volumen muerto). En el caso de EMAG®, se pueden extraer 46 muestras como mínimo con un 1 tubo de 1 mL de control interno.

(7) En caso de uso simultáneo de los kits HSV1&2 VZV R-GENE®, ENTEROVIRUS R-GENE® (ref. 69-005B) y/o Parechovirus R-GENE® (ref. 71-020), añada 10 µL de IC1 + 10 µL de IC2 a la muestra.

Es necesario almacenar los eluidos conforme a las recomendaciones del fabricante del instrumento. En el caso de los instrumentos de BIOMÉRIEUX, esta información figura en el manual del usuario del instrumento.

9. PROTOCOLO DE DETECCIÓN/CUANTIFICACIÓN EN TIEMPO REAL

Nota: Para simplificar las instrucciones, el dispositivo dedicado a contener la mezcla de reacción de amplificación se denomina "tube".

- Los productos que se van a amplificar se corresponden con los productos de elución de muestras obtenidas siguiendo los métodos de extracción validados para el kit.

9.1. Programación de termocicladores

- Independientemente del instrumento de PCR en tiempo real empleado, el programa de amplificación consiste en lo siguiente.
- En las tablas siguientes se validan y presentan dos programas de amplificación.

Importante: En caso de detección simultánea con otra gama de productos ARGENE®, consulte el kit HSV1&2 VZV R-GENE® para la programación de la adquisición de fluorescencia.

Programa ADN

Fases	Duración	Temperatura	Ciclos	Adquisición de fluorescencia				
				LC480 (System II)	Applied Biosystems validados	Rotor-Gene Q	CFX96	
Los aumentos y disminuciones de temperatura se establecen por defecto en 20 °C/segundo o en el 100 %								
Activación de polimerasa Taq	15 min	95 °C	1	-	-	-	-	
Amplificación	Desnaturalización	10 s	45	-	-	-	-	
	Hibridación	40 s		60 °C	3 sondas de hidrólisis de colores (FAM, "Cy5"/"Cy5.5", VIC/HEX/ Amarillo 555	FAM "CY5"	Green Red Yellow	FAM "Cy5" HEX
	Elongación				Al final de la hibridación/elongación			

Programa DNA/RNA (seleccione este programa en caso de detección simultánea con ENTEROVIRUS R-GENE® y/o Parechovirus R-GENE®)

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N.: 16.718

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

Fases	Duración	Temperatura	Ciclos	Adquisición de fluorescencia			
				LC480 (System II)	Applied Biosystems validados	Rotor-Gene Q	CFX96
Los aumentos y disminuciones de temperatura se establecen por defecto en 20 °C/segundo o en el 100 %							
Transcripción inversa	5 min	50 °C	1	-	-	-	-
Activación de polimerasa Taq	15 min	95 °C	1	-	-	-	-
Amplificación	Desnaturalización	10 s	45	-	-	-	-
	Hibridación	40 s		3 sondas de hidrólisis de colores (FAM, "Cy5"/"Cy5.5", VIC/HEX/ Amarillo 555	FAM "CY5" VIC	Green Red Yellow	FAM "Cy5" HEX
	Elongación	25 s		Fin de elongación			
				-	-	-	-

Nota: En LightCycler 480, añadir una fase de enfriamiento: 30 s/40 °C/1 ciclo al final de la PCR.

Nota: En LightCycler 480, hay dos sistemas ópticos: solo "System II" es compatible con el uso del kit. El software de "System II" incluye una compensación de color automática.

Nota: En Applied Biosystems, seleccione "NONE" en "PASSIVE REFERENCE".

Nota: En Rotor-Gene Q, para permitir una lectura correcta del colorante Cyanine 5 en el canal rojo, cuando se procesan varios parámetros juntos en el mismo rotor de PCR:

- un **QS** debe colocarse en la posición 1.
- O, en la pestaña **Auto-Gain Optimisation Channel Settings**, para los tres canales (**Red, Yellow y Green**), seleccione la **Tube Position** de un **QS**.

Están disponibles pautas de programación bajo petición. Póngase en contacto con el representante local de BIOMÉRIEUX.

9.2. Preparación de la amplificación

Asegúrese de que el bloque enfriador se ha descontaminado (por ejemplo, mediante exposición a luz ultravioleta durante 30 minutos).

En la sala reservada a la amplificación

- Antes de cada utilización:
 - Los reactivos deben descongelarse totalmente a **+18 °C/+25 °C** antes de iniciar la prueba.
 - Después de descongelarlos, los reactivos deben permanecer sobre un bloque frío (+2 °C/+8 °C).
 - Homogeneice el **QS** y el **SC** (usando un agitador tipo vórtex durante 5-10 segundos) y centrifugue brevemente.
 - Homogeneizar los demás reactivos (mediante un mezclador tipo vórtex durante 2-5 segundos) y centrifugar brevemente.

ATENCIÓN:

- En caso de pipeteo manual y para evitar todo lo posible la contaminación, cierre los tubos cuando se haya completado la distribución.
- Es necesario volver a poner todos los reactivos (premezclas de amplificación [R21 y R22], estándares de cuantificación [QS] y control de sensibilidad [SC]) a **-15 °C/-31 °C** inmediatamente después de usarlos.

Preparar n tubos:

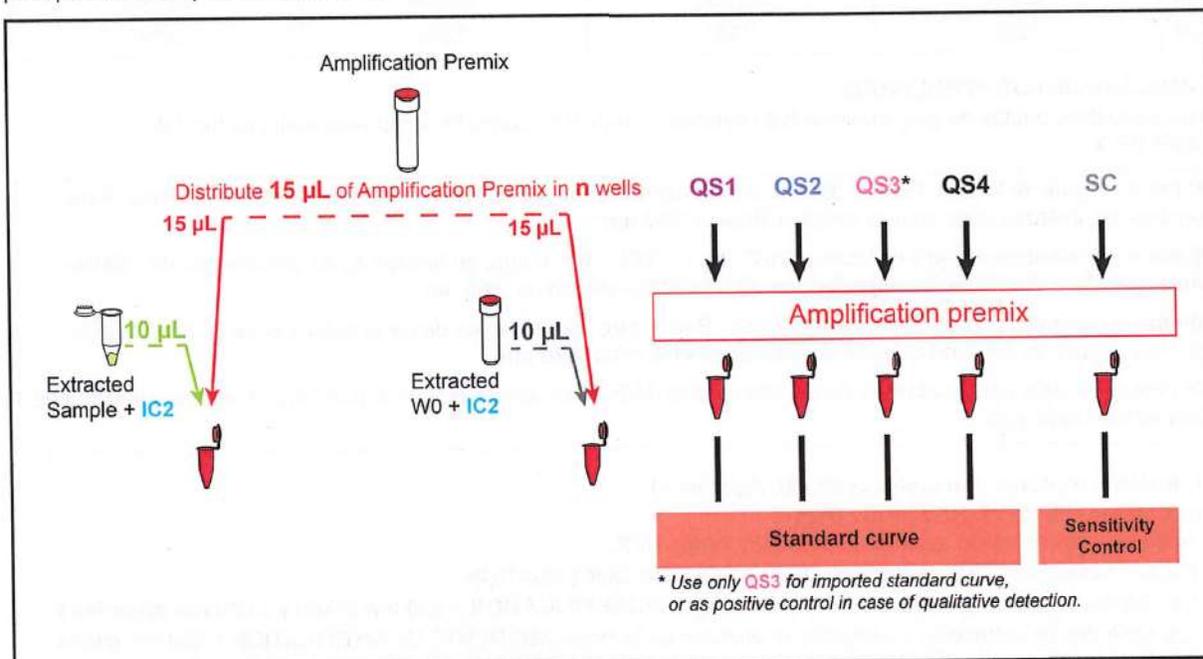
1	tubo	por muestra probada.
4	tubos	para la curva estándar creada.
O 1	tubo	para la curva patrón importada.
O 1	tubo	para QS3 como control positivo en caso de una detección cualitativa.
1	tubo	para el control de sensibilidad (SC) (<i>Opcional</i>).
1	tubo	para control de extracción + inhibición de referencia, lo cual también sirve como control negativo de extracción + amplificación (IC2W0).

Nota: Para el sistema de amplificación CFX96, utilice las placas transparentes con tapones ópticos.

Nota: Para el instrumento de amplificación LightCycler 480 System II, utilice placas blancas LightCycler 480 Multiwell Plate 96.

Nota: Para el instrumento de amplificación Rotor-Gene Q, utilice "Strip Tubes and Caps, 0.1 mL".

Nota: Para los instrumentos de amplificación de Applied Biosystems validados, use la "placa de reacción MicroAmp de 96 pocillos óptica" y la "película adhesiva óptica MicroAmp" con bloque para placas de 96 pocillos de 0,2 mL y use la "placa de reacción rápida MicroAmp de 96 pocillos óptica, 0,1 mL" y la "película adhesiva óptica MicroAmp" con bloque para placas de 96 pocillos de 0,1 mL.



- Extraiga y expulse 15 µL de la premezcla de amplificación específica del patógeno objetivo y distribuya 15 µL de ella en cada tubo.
- Al añadir la muestra, extraer y expulsar para homogeneizar la mezcla de reacción (salvo con Rotor-Gene Q).

Es necesario seguir el orden de distribución siguiente durante los procedimientos manuales:

1. Añadir 10 µL de IC2W0 extraído en el tubo correspondiente. Este tubo es el control negativo extracción y amplificación IC2W0.
2. Añada 10 µL de cada muestra extraída en cada tubo correspondiente.
3. Añada 10 µL de control de sensibilidad (SC) en el tubo correspondiente (*Opcional*).
4. Añada 10 µL de estándar (de QS4 a QS1, o solo QS3 para experimentos de detección cualitativa o en caso de importación de curva estándar) en cada tubo correspondiente.
5. Centrifugue los tubos con el dispositivo correspondiente, si corresponde, antes de transferirlos al termociclador.
6. Ejecute el programa de amplificación que se describe en la sección PROGRAMACIÓN DE TERMOCICLADORES.
7. Identifique las muestras y los controles.
8. Para la cuantificación del patógeno objetivo, introduzca los valores estándar siguientes en términos de copias/mL conforme al protocolo de extracción y la proporción siguiente: volumen extraído de muestra/volumen de elución.

	Cuantificación			
	Extracción de 200 µL Elución en 50 µL (copias/mL)	Extracción de 200 µL Elución en 100 µL (copias/mL)	Extracción de 400 µL Elución en 100 µL (copias/mL)	Extracción de 200 µL Elución en 90 µL (copias/mL)
QS1	1 250 000	2 500 000	1 250 000	2 250 000
QS2	125 000	250 000	125 000	225 000
QS3	12 500	25 000	12 500	22 500
QS4	1250	2500	1250	2250

10. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Están disponibles pautas de programación bajo petición. Póngase en contacto con el representante local de BIOMÉRIEUX.

530 nm = el canal de lectura "FAM" o "Green" u otro, dependiendo de las plataformas de PCR en tiempo real. Para simplificar las instrucciones, solo se utiliza el término "**530 nm**".

560 nm = corresponde al canal de lectura "VIC", "Hex", "YELLOW" u otro, en función de las plataformas de PCR en tiempo real. Para simplificar las instrucciones, solo se utiliza el término "**560 nm**".

670 nm = corresponden al canal de lectura "CY5", "Red" u otro, dependiendo de las plataformas de PCR en tiempo real. Para simplificar las instrucciones, solo se utiliza el término "**670 nm**".

Ct = Umbral de ciclo para la mayoría de las plataformas de PCR en tiempo real o CP (Crossing Point) para la gama de instrumentos LightCycler.

10.1. Análisis de datos con LightCycler 480 (System II)

Para la mezcla HSV1, HSV2 e IC2 (R21)

- Active la compensación automática de LC480 FAM - HEX.
- Para el análisis en "CY5", seleccione **OFF** en **COLOR COMPENSATION**.
- Las dianas víricas se analizan en modo **ABSOLUTE QUANTIFICATION** a **530 nm (FAM)** y a **670 nm (Cyanine 5)**.
- Los controles de extracción + inhibición se analizan en el modo **ABSOLUTE QUANTIFICATION** a **560 nm (HEX)**.
- Para cada muestra positiva se calcula un valor de **CROSSING POINT (CP)** a **530 nm** y **670 nm**.
- El análisis de los controles de extracción + inhibición se efectúa comparando el valor CP calculado para cada control de extracción + inhibición (**IC2sample**) con el valor CP obtenido con el control de extracción + inhibición de referencia (**IC2W0**) a **560 nm (HEX)**.

Para la mezcla VZV e IC2 (R22)

- Active la compensación automática de LC480 FAM - HEX.
- La diana viral se analiza en el modo **ABSOLUTE QUANTIFICATION** a **530 nm (FAM)**.
- Los controles de extracción + inhibición se analizan en el modo **ABSOLUTE QUANTIFICATION** a **560 nm (HEX)**.
- Para cada muestra positiva se calcula un valor de **CROSSING POINT (CP)** a **530 nm**.
- El análisis de los controles de extracción + inhibición se efectúa comparando el valor CP calculado para cada control de extracción + inhibición (**IC2sample**) con el valor CP obtenido con el control de extracción + inhibición de referencia (**IC2W0**) a **560 nm (HEX)**.

Nota: Es posible crear subconjuntos (**SUBSETS**) de cada parámetro analizado (p. ej.: **CMV, IC2 CMV**, etc.). En este caso, seleccione el subconjunto correspondiente.

- Para análisis cualitativo: utilice el método **FIT POINTS** para determinar el estado (positivo/negativo) de las muestras y los controles.
- Para análisis cuantitativos:
 1. Utilice el método **FIT POINTS** para determinar el estado (positivo/negativo) de las muestras y los controles.
 2. Guarde el método **FIT POINTS** o use el método **2ND DERIVATIVE MAX** para determinar la concentración de las muestras y controles.

Análisis mediante el ajuste de puntos:

El análisis mediante **FIT POINTS** consta de tres fases: **FASE 1: CYCLE RANGE**; **FASE 2: NOISE BAND**; **FASE 3: ANALYSIS**.


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 12


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DMI 27.941.903

En la **FASE 1**, calcular la colocación del umbral (por encima del ruido de fondo y en la fase exponencial de cada curva de amplificación, que generalmente corresponde al 5-10 % de la fluorescencia final de la muestra). En la **FASE 2**, notificar el valor estimado de modo que la línea horizontal elimine el ruido de base y atraviese todas las curvas al principio de su fase exponencial. A continuación, en la **FASE 3**, notificar el valor obtenido en el paso anterior para colocar la línea umbral.

Mueva la línea umbral para cada diana.

Análisis utilizando la segunda derivada:

El análisis mediante el método **2ND DERIVATIVE MAX** calcula automáticamente los CP.

Nota:

- Se recomienda guardar el método de análisis seleccionado para realizar el seguimiento de pacientes.
- Compruebe el **QS3** tal como se define en la sección **VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**.
- Se recomienda monitorizar los CP y la eficacia de los intervalos de estándares calculados utilizando el método **2ND DERIVATIVE MAX**. Si se observa alguna discrepancia entre los CP calculados y el punto de inflexión de la curva o las curvas no parecen ser no-sigmoidales, se deberá utilizar el método **FIT POINTS** para realizar el análisis.

10.2. Análisis de resultados en los equipos de Applied Biosystems validados

- Compruebe que se haya seleccionado **NONE** en el campo **PASSIVE REFERENCE**, puesto que la premezcla no contiene ningún fluorocromo de referencia pasiva.

Para la premezcla HSV1, HSV2 e IC2 (R21)

- Las dianas víricas se analizan después de seleccionar el detector/notificador **FAM** y **Cyanine 5** en el campo **DETECTOR/REPORTER**.
- Los controles de extracción + inhibición (**IC2sample** e **IC2W0**) se analizan después de seleccionar el detector/notificador **VIC** en el campo **DETECTOR/REPORTER**.
- El análisis de los controles de extracción + inhibición se efectúa comparando el valor Ct calculado para cada control de extracción + inhibición (**IC2sample**) con el valor Ct obtenido con el control de extracción + inhibición de referencia (**IC2W0**) a **560 nm (VIC)**.
- **Nota:** Es posible crear detectores/dianas para cada parámetro analizado (p. ej., **CMV, IC2 CMV, etc.**). Para hacerlo, cree un nuevo detector/notificador seleccionando **FAM, VIC** o **Cyanine 5** como **REPORTER** y **NONE** o **NFQ-MGB** como **QUENCHER**. A continuación, seleccione el detector/diana correspondiente.
- Para cada muestra positiva, se calcula un valor Ct a **530 nm (FAM)** o **670 nm (Cyanine 5)**. Las muestras o los controles negativos definidos como **UNDETERMINED** se muestran en la columna Ct.

Para la premezcla VZV e IC2 (R22)

- La diana vírica se analiza después de seleccionar el detector/notificador **FAM** en el campo **DETECTOR/REPORTER**.
- Los controles de extracción + inhibición (**IC2sample** e **IC2W0**) se analizan después de seleccionar el detector/notificador **VIC** en el campo **DETECTOR/REPORTER**.
- El análisis de los controles de extracción + inhibición se efectúa comparando el valor Ct calculado para cada control de extracción + inhibición (**IC2sample**) con el valor Ct obtenido con el control de extracción + inhibición de referencia (**IC2W0**) a **560 nm (VIC)**.
- **Nota:** Es posible crear detectores/dianas para cada parámetro analizado (p. ej., **CMV, IC2 CMV, etc.**). Para hacerlo, cree un nuevo detector/notificador seleccionando **FAM** como **REPORTER** y **NONE** o **NFQ-MGB** como **QUENCHER**. A continuación, seleccione el detector/diana correspondiente.
- Para cada muestra positiva se calcula un Ct de **530 nm (FAM)**. Las muestras o los controles negativos definidos como **UNDETERMINED** se muestran en la columna Ct.
- En modo de visualización lineal (desactive el método automático), mueva manualmente la línea umbral de tal modo que:
 - esté por encima del ruido de línea de base
 - esté en la fase exponencial de cada curva de amplificación, que generalmente corresponde al 5-10 % de la fluorescencia final de la muestra.

Nota:

- Mueva la línea umbral para cada diana.
- Compruebe el **QS3** tal como se define en la sección **VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**.

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 13

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

10.3. Análisis de los resultados en Rotor-Gene Q

Cuando se ejecutan varios parámetros juntos en el mismo rotor de PCR, el control positivo debe colocarse en la posición 1 (para permitir la lectura correcta del colorante Cyanine 5 en el canal rojo).

Para la premezcla HSV1, HSV2 e IC2 (R21)

- Las dianas víricas se analizan en modo **CYCLING A GREEN** a 530 nm o **CYCLING A RED** a 670 nm.
- Los controles de extracción + inhibición se analizan en el modo **CYCLING A YELLOW** a 560 nm.
- Para cada muestra positiva, se calcula un valor de **CYCLE THRESHOLD (Ct)** a 530 nm (verde) o 670 nm (rojo).
- El análisis de los controles de extracción + inhibición se efectúa comparando el valor Ct calculado para cada control de extracción + inhibición (**IC2sample**) con el Ct obtenido con el control de extracción + inhibición de referencia (**IC2W0**) a 560 nm (amarillo).

Para la premezcla VZV e IC2 (R22)

- La diana vírica se analiza en modo **CYCLING A GREEN** a 530 nm.
- Los controles de extracción + inhibición se analizan en el modo **CYCLING A YELLOW** a 560 nm.
- Para cada muestra positiva, se calcula un valor de **CYCLE THRESHOLD (Ct)** a 530 nm (verde).
- El análisis de los controles de extracción + inhibición se efectúa comparando el valor Ct calculado para cada control de extracción + inhibición (**IC2sample**) con el Ct obtenido con el control de extracción + inhibición de referencia (**IC2W0**) a 560 nm (amarillo).

Nota: Es posible crear páginas de análisis (**PAGE**) para cada parámetro analizado. En este caso, seleccione la página correspondiente.

- Seleccione la opción **DYNAMIC TUBES**.
- Si el nivel de fluorescencia de la línea de base no es constante, seleccione la opción **SLOPE CORRECT**.
- Si los primeros ciclos no son representativos (caída de la señal de fluorescencia, variaciones aleatorias de la fluorescencia, etc.), seleccione la opción **IGNORE FIRST** para eliminarlos.

Nota: Las opciones **SLOPE CORRECT** e **IGNORE FIRST** no son obligatorias y son acumulativas.

- En modo **LINEAR SCALE**, mueva manualmente la línea umbral de modo que:
 - esté por encima del ruido de línea de base
 - esté en la fase exponencial de cada curva de amplificación, que generalmente corresponde al 5-10 % de la fluorescencia final de la muestra.

Nota:

- Mueva la línea umbral para cada diana.
- Compruebe el **QS3** tal como se define en la sección **VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**.

10.4. Análisis de los resultados en CFX96

Para la premezcla HSV1, HSV2 e IC2 (R21)

- La dianas víricas se analizan en la pestaña **QUANTITATION** dejando marcados únicamente los botones **FAM** y "Cy5"
- Los controles extracción + inhibición se analizan en la pestaña **QUANTITATION** dejando marcado únicamente el botón **HEX**.
- El análisis de los controles de extracción + inhibición se efectúa comparando el Ct calculado para cada control de extracción + inhibición (**IC2sample**) con el Ct obtenido con el control de extracción + inhibición de referencia (**IC2W0**) a 560 nm.

Para la premezcla VZV e IC2 (R22)

- La diana viral se analiza en la pestaña **QUANTITATION** dejando marcado únicamente el botón **FAM**.
- Los controles extracción + inhibición se analizan en la pestaña **QUANTITATION** dejando marcado únicamente el botón **HEX**.

El análisis de los controles de extracción + inhibición se efectúa comparando el Ct calculado para cada control de extracción + inhibición (**IC2sample**) con el Ct obtenido con el control de extracción + inhibición de referencia (**IC2W0**) a 560 nm.

Opcional: Seleccione una premezcla en el menú desplegable **FLUOROPHORE**, si se ha creado anteriormente.

- En modo **SINGLE THRESHOLD**, mueva manualmente la línea umbral de modo que:
 - esté por encima del ruido de línea de base
 - esté en la fase exponencial de cada curva de amplificación, que generalmente corresponde al 5-10 % de la fluorescencia final de la muestra.

- Para cada muestra positiva, se calcula un valor Ct a **530 nm (FAM)** o a **670 nm (Cyanine 5)**. Las muestras o los controles negativos se indican como **N/A** en la columna **Ct**.

Nota:

- Mueva la línea umbral para cada diana.
- Compruebe el **QS3** tal como se define en la sección **VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**.

11. VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

11.1. Validación de la serie de PCR

ATENCIÓN: La serie solo es válida si se cumplen todas las condiciones que se especifican a continuación. Si no es el caso, consulte la sección **SOLUCIÓN DE PROBLEMAS**.

Ct = Umbral de ciclo para la mayoría de las plataformas de PCR en tiempo real o CP (Crossing Point) para la gama de instrumentos LightCycler.

- 1.ª CONDICIÓN: **IC2W0** no debe ofrecer señal (Ct) a **530 nm** or **670 nm**.
- 2.ª CONDICIÓN: **IC2W0** debe ofrecer una señal (Ct) menor o igual a 32 ciclos a **560 nm**.
- 3.ª CONDICIÓN: El valor de Ct de **QS3** (leído a **530 nm** para HSV1 y VZV y a **670 nm** para HSV2), así como la pendiente o la eficacia requerida para la gama estándar, deben estar comprendidos entre los valores que figuran en la siguiente tabla.

Para los parámetros HSV1 y HSV2:

Instrumentos	Detección Cuantitativa				Detección cualitativa	
	Ct QS3 HSV1 (530 nm)	Ct QS3 HSV2 (670 nm)	Pendiente/Eficacia necesaria		Ct QS3 HSV1 (530 nm)	Ct QS3 HSV2 (670 nm)
			Intervalo estándar analizado en cada serie	Intervalo estándar procesado en la importación posterior		
Rotor-Gene Q	28,5 - 32,5 ciclos	26,0 - 30,0 ciclos	0,8 < Eficacia < 1,1		28,5 - 32,5 ciclos	26,0 - 30,0 ciclos
LightCycler 480 (System II)	30,5 - 34,5 ciclos	28,0 - 32,0 ciclos	1,8 < Eficacia < 2,1		30,5 - 34,5 ciclos	28,0 - 32,0 ciclos
Applied Biosystems validados			-3,917 < Tendencia < -3,103	No aplicable		
CFX96			80 % < Eficacia < 110 %			

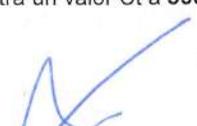
Para el parámetro VZV:

Instrumentos	Detección Cuantitativa			Detección cualitativa
	Ct QS3 VZV (530 nm)	Pendiente/Eficacia necesaria		Ct QS3 VZV (530 nm)
		Intervalo estándar analizado en cada serie	Intervalo estándar procesado en la importación posterior	
Rotor-Gene Q	26,5 - 30,5 ciclos	0,7 < Eficacia < 1,1		26,5 - 30,5 ciclos
LightCycler 480 (System II)	28,5 - 33,5 ciclos	1,7 < Eficacia < 2,1		28,5 - 33,5 ciclos
Applied Biosystems validados		-4,339 < Tendencia < -3,103	No aplicable	
CFX96		70 % < Eficacia < 110 %		

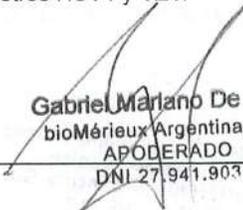
⇒ Si se cumplen todas estas condiciones, la serie es válida y es posible interpretar los resultados.

11.2. Interpretación de los resultados

- Cada muestra deberá analizarse de forma individual.
- Se muestra un valor Ct a **530 nm** para todas las muestras positivas para los parámetros HSV1 y VZV.


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 15

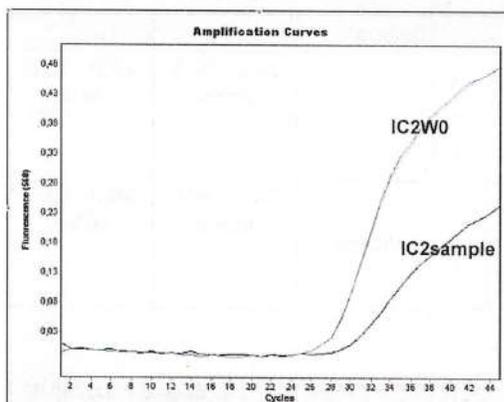

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

- Se muestra un valor Ct a **670 nm** para todas las muestras positivas para el parámetro HSV2.
- Si no se puede calcular un valor Ct a **530 nm** para los parámetros HSV1 y VZV, y a **670 nm** para el parámetro HSV2, la muestra se considera negativa o inhibida o mal extraída.
- No obstante, en todos los casos es necesario controlar la ausencia de inhibición y el buen desarrollo de la etapa de extracción a **560 nm**, de acuerdo con los elementos descritos más adelante.
- Una carga viral elevada en la muestra puede dar lugar a la inhibición del control interno y producir una señal reducida o ausente a **560 nm**.

Control de extracción + inhibición (IC2sample)	Ct [IC2sample] ≤ Ct [IC2W0] + 3 ciclos**		Ct [IC2sample] > Ct [IC2W0] + 3 ciclos	
	Muestra NO INHIBIDA y EXTRAÍDA CORRECTAMENTE		Muestra INHIBIDA y/o MAL EXTRAÍDA	
Muestra	Ct calculado	CT no calculado	Ct calculado	CT no calculado
Interpretación cualitativa HSV1 o HSV2 o VZV	Patógeno detectado	Patógeno no detectado	Patógeno detectado	Resultado no válido
Interpretación cuantitativa HSV1 o HSV2 o VZV	Patógeno detectado Cuantificación validada*	Patógeno no detectado	Patógeno detectado Es necesario repetir la cuantificación	Resultado no válido

* Dentro del intervalo indicado de cuantificación. Fuera de este intervalo, es necesario interpretar el resultado como una cuantificación mayor/menor que los límites superior/inferior del intervalo indicado.

** Si la pendiente de la curva genera una caída en la fluorescencia final ≥50 % en comparación con la fluorescencia final de IC2W0 (consulte la figura siguiente), esto representa una inhibición. Vuelva a probar la muestra.



Importante:

- Para interpretar los resultados, se recomienda que el resultado de cuantificación se exprese como base logarítmica 10 (\log_{10}).
- Una diferencia de menos de 0,5 \log_{10} entre dos resultados de cuantificación expresados en \log_{10} copias/mL de muestra es generalmente aceptable y no se considera significativa.
- Para resultados expresados en \log_{10} , esta interpretación es aplicable solo si las dos cuantificaciones se realizan con el mismo método y los mismos instrumentos de extracción y amplificación.
- Es **imprescindible** comparar los resultados obtenidos con este kit con otros resultados de pruebas clínicas y biológicas para definir el estado de cada paciente.

12. PRESTACIONES

ATENCIÓN: Las prestaciones descritas se han validado y están garantizadas cuando se utilizan las combinaciones de sistema/dispositivo de amplificación que se describen en esta sección.

12.1. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del kit HSV1&2 VZV R-GENE® fue determinada usando una serie de diluciones de cultivos virales: HSV1 ATCC® VR-260™ (cepa HF), HSV2 ATCC® VR-540™ (cepa MS) o VZV ATCC® VR-916™ (cepa Webster)

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO

cuantificado en copias/mL. Las diluciones en serie fueron realizadas en matrices de sangre total, plasma sanguíneo, LCR, LBA (solo para HSV1 y HSV2), frotis mucocutáneos, frotis anogenitales (solo para HSV1 y HSV2) y frotis de garganta (solo para HSV1 y HSV2), anteriormente caracterizadas como negativas para HSV1, HSV2 y VZV. Cada dilución se extrajo 20 veces usando los instrumentos de medición NUCLISENS® easyMAG® (para matriz sanguínea) o EMAG® (otras matrices) instrumentos de extracción, y después fueron amplificadas usando el kit HSV1&2 VZV R-GENE® kit con instrumentos ABI 7500 Fast o ABI 7500 Fast Dx.

Los límites de detección (LoD 95 %) para HSV1&2 VZV R-GENE® son:

LoD 95 %	HSV1		HSV2		VZV	
	cp/mL	Log ₁₀ cp/mL	cp/mL	Log ₁₀ cp/mL	cp/mL	Log ₁₀ cp/mL
LCR	250	2,4	100	2,0	300	2,5
Sangre total	500	2,7	100	2,0	500	2,7
Plasma sanguíneo					N/A	N/A
LBA					N/A	N/A
Frotis mucocutáneos	1000	3,0	1000	3,0	1000	3,0
Frotis anogenital					N/A	N/A
Exudados laríngeos					N/A	N/A

12.2. Precisión

Se realizaron estudios de precisión utilizando el kit HSV1&2 VZV R-GENE®, mediante un estudio de repetibilidad (variación intraejecución) y un estudio de reproducibilidad (variación intralaboratorio), con distintas muestras con matrices de sangre total (modelo de plasma sanguíneo), LCR y LBA (solo para HSV1 Y HSV2) y en matriz de frotis artificial para frotis mucocutáneo, anogenital y de garganta. Estas muestras fueron analizadas 18 veces con instrumentos ABI 7500 Fast o ABI 7500 Fast Dx después de la extracción con NUCLISENS® easyMAG® (para matriz de sangre total) o EMAG® (para las otras matrices).

Para cada matriz, se probó un panel de muestras de HSV1 ATCC® VR-1493™ (cepa KOS), HSV2 ATCC® VR-734™ (cepa G), VZV ATCC® VR-1367™ (cepa Ellen), HSV1 ATCC® VR-260™ (cepa HF), HSV2 ATCC® VR-540™ (cepa MS) o VZV ATCC® VR-916™ (cepa Webster) a diferentes concentraciones.

Para matrices de sangre total (que también fue utilizada como modelo de plasma sanguíneo), LCR y LBA (solo para HSV1 y HSV2), el panel está compuesto de muestras a LoD, límite inferior de cuantificación (LLoQ), límite superior de cuantificación (ULoQ) y una muestra negativa. Para matrices de frotis artificiales (modelo para frotis mucocutáneo, frotis anogenital y frotis de garganta), el panel está compuesto de muestras a LoD, 5xLoD y una muestra negativa.

Cada panel de muestras se ha probado en dos lotes, con tres días por lote, una ejecución por día y tres réplicas por ejecución.

Las tablas siguientes muestran los valores medios de Ct o cuantificaciones en log₁₀ cp/mL obtenidos de las 18 pruebas repetidas sobre cada muestra. Se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación para repetibilidad y reproducibilidad.

Sangre total

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio en log ₁₀ copias/mL	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
HSV1	LoD (= LLoQ)	2,7	Reproducibilidad	0,25	9,2
			Repetibilidad	0,22	8,1
	ULoQ	7,8	Reproducibilidad	0,08	1,0
			Repetibilidad	0,04	0,5
HSV2	LLoQ	3,1	Reproducibilidad	0,13	4,3
			Repetibilidad	0,08	2,6
	ULoQ	7,6	Reproducibilidad	0,06	0,8
			Repetibilidad	0,05	0,7

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio en log ₁₀ copias/mL	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
VZV	LoD (= LLoQ)	2,3	Reproducibilidad	0,24	10,3
			Repetibilidad	0,19	8,2
	ULoQ	7,6	Reproducibilidad	0,10	1,3
			Repetibilidad	0,05	0,7

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio de Ct	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
HSV1	LoD	37,6	Reproducibilidad	0,77	2,1
			Repetibilidad	0,77	2,1
HSV2	LoD	35,8	Reproducibilidad	0,52	1,5
			Repetibilidad	0,50	1,4
VZV	LoD	38,4	Reproducibilidad	0,86	2,2
			Repetibilidad	0,70	1,8

LCR

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio en log ₁₀ copias/mL	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
HSV1	LLoQ (= LoD)	2,8	Reproducibilidad	0,25	9,0
			Repetibilidad	0,15	5,4
	ULoQ	8,2	Reproducibilidad	0,15	1,9
			Repetibilidad	0,07	0,9
HSV2	LLoQ (= LoD)	2,4	Reproducibilidad	0,19	8,1
			Repetibilidad	0,16	6,9
	ULoQ	7,8	Reproducibilidad	0,13	1,7
			Repetibilidad	0,05	0,7
VZV	LLoQ	2,7	Reproducibilidad	0,15	5,5
			Repetibilidad	0,10	3,7
	ULoQ	8,1	Reproducibilidad	0,15	1,9
			Repetibilidad	0,15	1,9

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio de Ct	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
HSV1	LoD	37,2	Reproducibilidad	0,70	1,9
			Repetibilidad	0,55	1,5
HSV2	LoD	35,8	Reproducibilidad	0,61	1,7
			Repetibilidad	0,57	1,6
VZV	LoD	37,3	Reproducibilidad	0,64	1,7
			Repetibilidad	0,57	1,5

LBA

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio en log ₁₀ copias/mL	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
HSV1	LLoQ (= LoD)	2,8	Reproducibilidad	0,16	5,9
			Repetibilidad	0,13	4,7
	ULoQ	8,1	Reproducibilidad	0,15	1,9
			Repetibilidad	0,04	0,5

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 18

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio en log ₁₀ copias/mL	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
HSV2	LLOQ	2,7	Reproducibilidad	0,12	4,6
			Repetibilidad	0,12	4,4
	ULoQ	7,8	Reproducibilidad	0,13	1,6
			Repetibilidad	0,06	0,7

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio de Ct	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
HSV1	LoD	37,0	Reproducibilidad	0,51	1,4
			Repetibilidad	0,47	1,3
HSV2	LoD	36,9	Reproducibilidad	1,07	2,9
			Repetibilidad	0,76	2,1

Frotis mucocutáneos, anogenitales y de garganta (matrices de frotis artificiales)

Parámetro	Muestra de entrada	Valor medio de Ct	Fuente de variabilidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
HSV1	5xLoD	35,1	Reproducibilidad	0,42	1,2
			Repetibilidad	0,39	1,1
	LoD	37,6	Reproducibilidad	0,79	2,1
			Repetibilidad	0,78	2,1
HSV2	5xLoD	30,7	Reproducibilidad	0,41	1,3
			Repetibilidad	0,41	1,3
	LoD	33,4	Reproducibilidad	0,57	1,7
			Repetibilidad	0,46	1,4
VZV	5xLoD	31,8	Reproducibilidad	1,01	3,2
			Repetibilidad	1,01	3,2
	LoD	35,4	Reproducibilidad	1,28	3,6
			Repetibilidad	1,26	3,6

Estos valores demuestran la buena reproducibilidad y repetibilidad del kit.

12.3. Linealidad

Se realizó una serie de diluciones de muestras HSV1, HSV2 o VZV altamente positivas (de cultivo viral interno o de muestras procedentes de frotis) para sangre total, plasma sanguíneo, matrices de LCR y LBA (solo para HSV1 y HSV2), con tres réplicas por concentración. Las extracciones se realizaron con los instrumentos NUCLISENS® easyMAG® (para la matriz de sangre total) o EMAG® (otras matrices) y se amplificaron las muestras extraídas en ABI 7500 Fast y ABI 7500 Fast Dx.

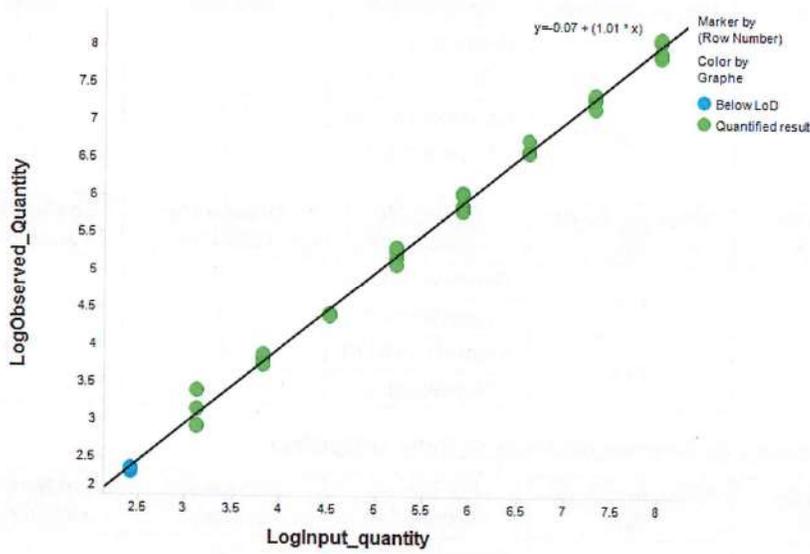
Las cifras siguientes presentan los resultados del estudio:

- **Sangre total**

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

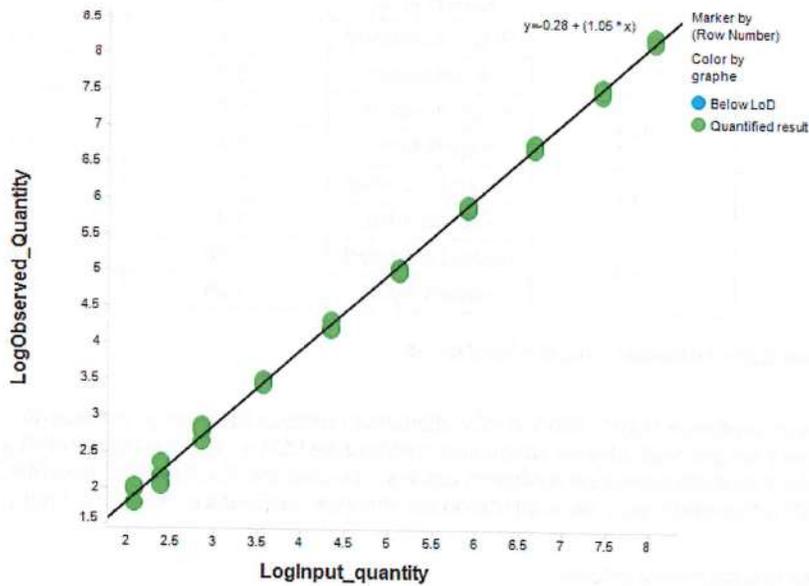
Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

◦ HSV1



Para HSV1 en sangre total, se demostró el rango de linealidad de $2,6E+02$ ($2,4 \log_{10}$) a $1,0E+08$ ($8,0 \log_{10}$) cp/mL.

◦ HSV2

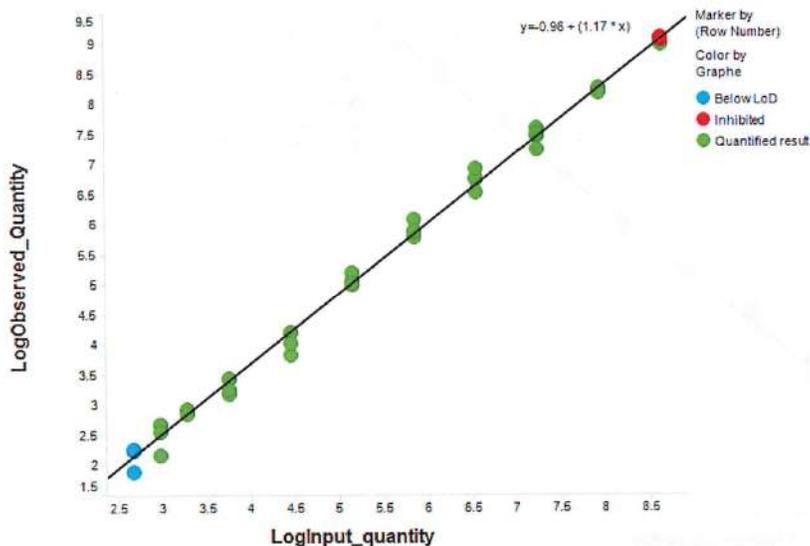


Para HSV2 en sangre total, se demostró el rango de linealidad de $1,1E+02$ ($2,1 \log_{10}$) a $1,0E+08$ ($8,0 \log_{10}$) cp/mL.

(Signature)
 Farm. Maximiliano Milano
 Director Técnico
 bioMérieux Argentina S.A.
 M.N: 16.718

(Signature)
 Gabriel Mariano De León
 bioMérieux Argentina S.A.
 APODERADO
 DNI 27.941.903

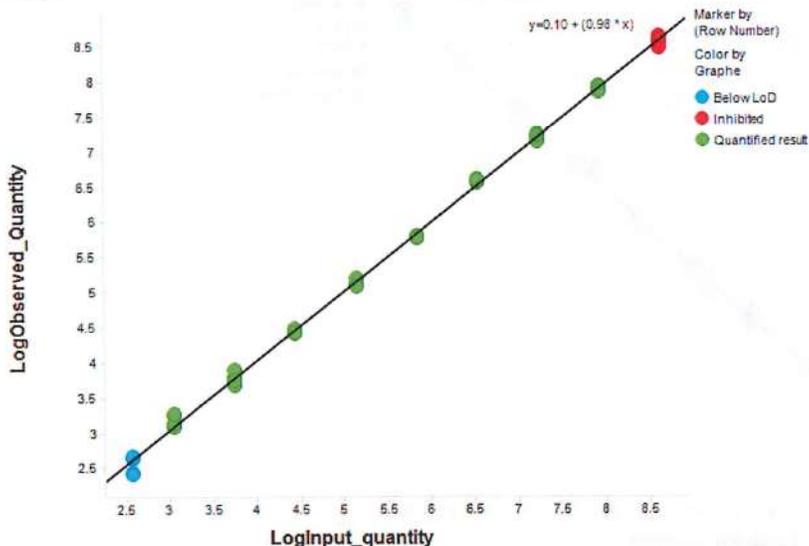
◦ VZV



Para VZV en sangre total, se demostró el rango de linealidad de $4,6E+02$ ($2,7 \log_{10}$) a $4,3E+08$ ($8,6 \log_{10}$) cp/mL.

• Plasma sanguíneo

◦ HSV1

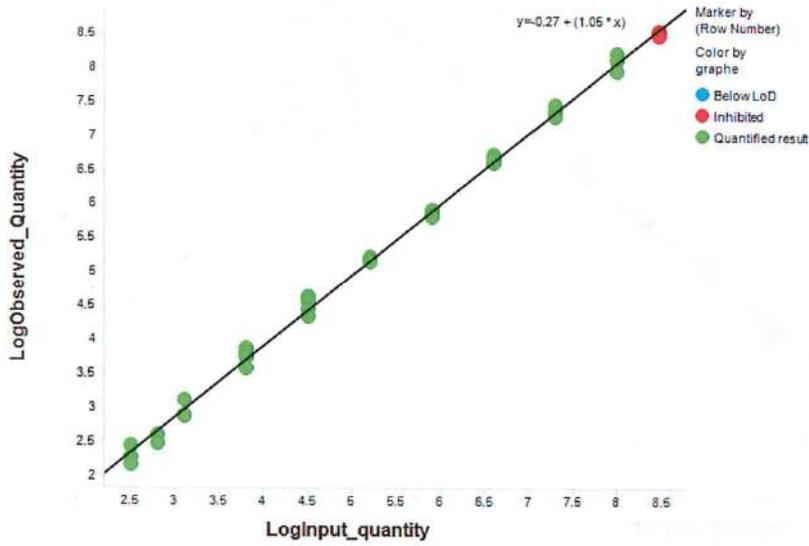


Para HSV1 en plasma sanguíneo, se demostró el rango de linealidad de $1,8E+02$ ($2,3 \log_{10}$) a $4,3E+08$ ($8,6 \log_{10}$) cp/mL.

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

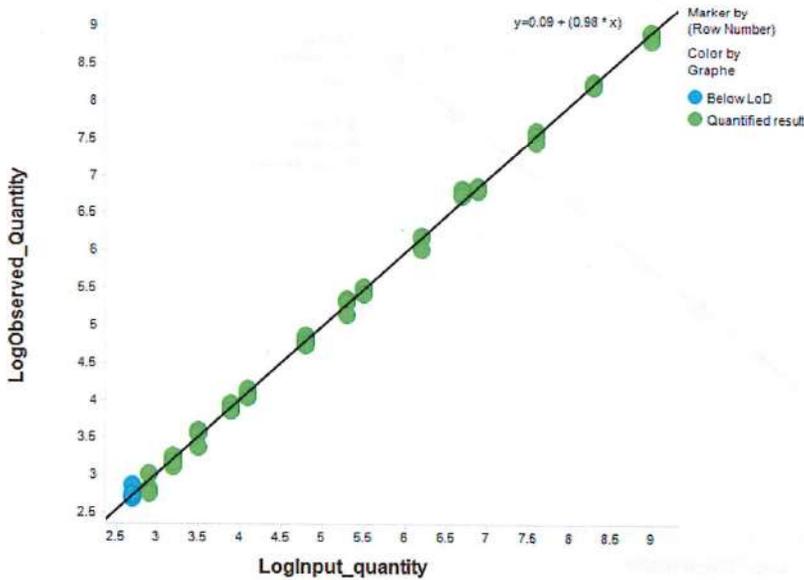
Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

◦ HSV2



Para HSV2 en plasma sanguíneo, se demostró el rango de linealidad de $3,1E+02$ ($2,5 \log_{10}$) a $2,9E+08$ ($8,5 \log_{10}$) cp/mL.

◦ VZV



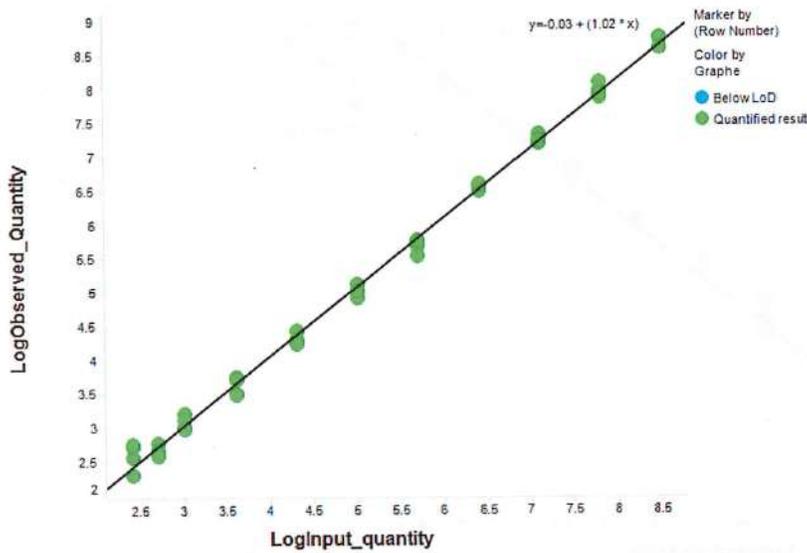
Para VZV en plasma sanguíneo, se demostró el rango de linealidad de $4,9E+02$ ($2,7 \log_{10}$) a $9,7E+08$ ($9,0 \log_{10}$) cp/mL.

• LCR

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

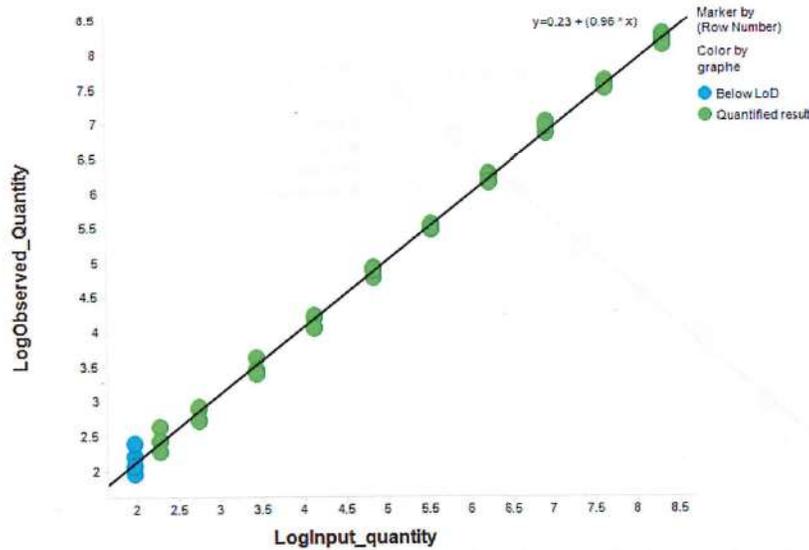
Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
ARODERADO
DNI 27.941.903

◦ HSV1



Para HSV1 en líquido cefalorraquídeo, se demostró el rango de linealidad de $2,5E+02$ ($2,4 \log_{10}$) a $3,2E+08$ ($8,5 \log_{10}$) cp/mL.

◦ HSV2

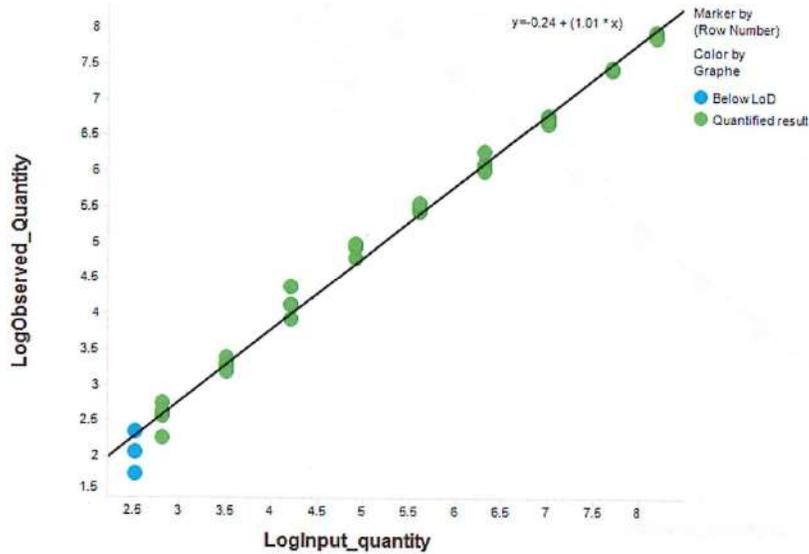


Para HSV2 en líquido cefalorraquídeo, se demostró el rango de linealidad de $9,1E+01$ ($2,0 \log_{10}$) a $2,1E+08$ ($8,3 \log_{10}$) cp/mL.

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N.: 16.718

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

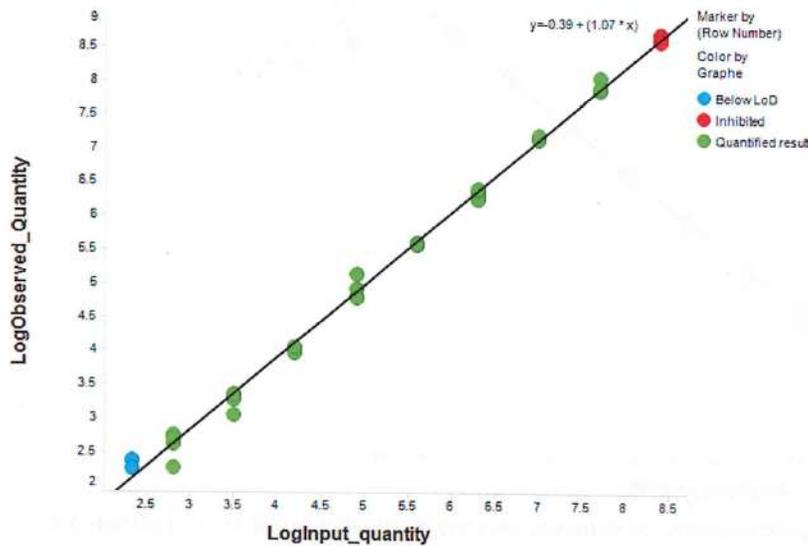
◦ VZV



Para VZV en líquido cefalorraquídeo, se demostró el rango de linealidad de $3,2E+02$ ($2,5 \log_{10}$) a $1,5E+08$ ($8,2 \log_{10}$) cp/mL.

• LBA

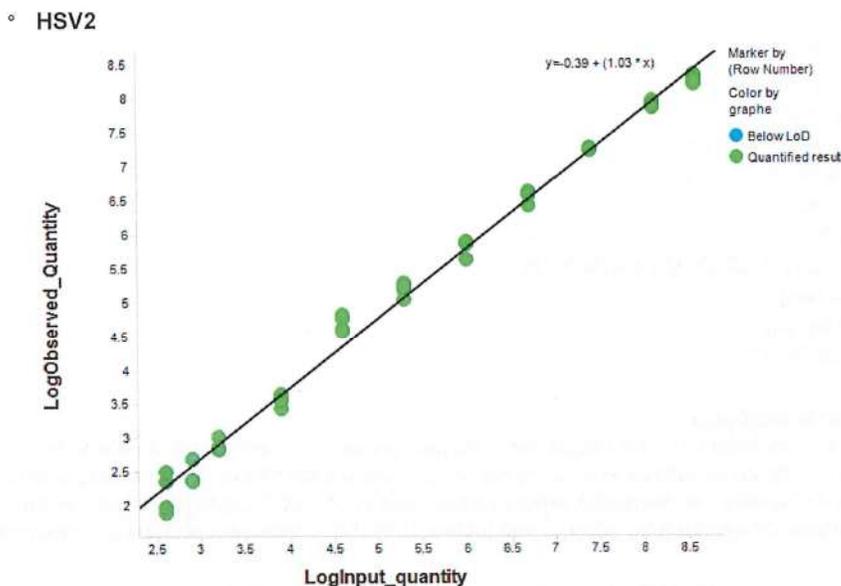
◦ HSV1



Para HSV1 en LBA, se demostró el rango de linealidad de $2,1E+02$ ($2,3 \log_{10}$) a $2,5E+08$ ($8,4 \log_{10}$) cp/mL.


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903



Para HSV2 en LBA, se demostró el rango de linealidad de $3,9E+02$ ($2,6 \log_{10}$) a $3,7E+08$ ($8,6 \log_{10}$) cp/mL.

12.4. Intervalo de cuantificación

En sangre total y plasma sanguíneo (para HSV1, HSV2 y VZV):

El rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® se incluye entre 500 y $1,0E+08$ copias/mL (es decir, entre $2,7 \log_{10}$ y $8,0 \log_{10}$ copias/mL).

En LBA (solo para HSV1 y HSV2):

El rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® se incluye entre 500 y $1,0E+08$ copias/mL (es decir, entre $2,7 \log_{10}$ y $8,0 \log_{10}$ copias/mL).

En LCR:

- **Para HSV1:**

El rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® se incluye entre 250 y $1,0E+08$ copias/mL (por ej., entre $2,4 \log_{10}$ y $8,0 \log_{10}$ copias/mL).

- **Para HSV2:**

El rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® se incluye entre 100 y $1,0E+08$ copias/mL (por ej., entre $2,0 \log_{10}$ y $8,0 \log_{10}$ copias/mL).

- **Para VZV:**

El rango de cuantificación de la prueba HSV1&2 VZV R-GENE® se incluye entre 500 y $1,0E+08$ copias/mL (por ej., entre $2,7 \log_{10}$ y $8,0 \log_{10}$ copias/mL).

12.5. Especificidad analítica

12.5.1. Inclusividad

Para el estudio de inclusividad, se determinó la especificidad del reconocimiento de los cebadores y las sondas seleccionadas para la detección de HSV1, HSV2 y VZV del kit HSV1&2 VZV R-GENE® utilizando matriz de sangre total.

Se analizó HSV1 ATCC® VR733™ (cepa F), HSV2 ATCC® VR734™ (cepa G) y VZV ATCC® VR1367™ (cepa Ellen) por triplicado para todo el intervalo de cuantificación de la plataforma ABI 7500 Fast después de su extracción con NUCLEISENS® easyMAG®.

Se analizó por triplicado HSV1 ATCC® VR539™ (cepa MacIntyre), HSV1 ATCC® VR1493™ (cepa KOS), HSV1 ATCC® VR1789™ (cepa ATCC-2011-9), HSV1 ATCC® VR1778™ (cepa ATCC-2011-1), HSV2 09-015681 (cepa incluida en el panel EQA QCMD 2016) y VZV ATCC® VR1433™ (cepa AV92-3:L) a 4xLoD en la plataforma ABI 7500 Fast después de su extracción con NUCLEISENS® easyMAG®.

La especificidad del reconocimiento de los cebadores y las sondas seleccionados para la detección de HSV1 ATCC® VR-260™ (cepa HF), HSV2 ATCC® VR-540™ (cepa MS) o VZV ATCC® VR-916™ (cepa Webster) es objeto de otros estudios analíticos.

Los resultados obtenidos demuestran que se puede utilizar el kit HSV1&2 VZV R-GENE® para detectar y cuantificar:

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 25

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

- HSV1 ATCC® VR733™ (cepa F)
- HSV1 ATCC® VR-260™ (cepa HF)
- HSV1 ATCC® VR539™ (cepa MacIntyre)
- HSV1 ATCC® VR1493™ (cepa KOS)
- HSV1 ATCC® VR1789™ (cepa ATCC-2011-9)
- HSV1 ATCC® VR1778™ (cepa ATCC-2011-1)
- HSV2 ATCC® VR-540™ (cepa MS)
- HSV2 ATCC® VR734™ (cepa G)
- HSV2 09-015681 (cepa incluida en EQA QCMD panel 2016)
- VZV ATCC® VR1367™ (cepa Ellen)
- VZV ATCC® VR-916™ (cepa Webster)
- VZV ATCC® VR1433™ (cepa AV92-3:L)

12.5.2. Exclusividad e interferencia biológica

Se demostró la especificidad del reconocimiento de los cebadores y las sondas seleccionados para la detección específica de HSV1, HSV2 y VZV mediante el análisis *in silico* de secuencias (muestras virales, bacterianas, levaduras y humanas) en bases de datos y, por otra parte, se demostró experimentalmente sobre los 73 patógenos que tienen probabilidades de hallarse en matrices de sangre total, plasma sanguíneo, LCR, LBA, frotis mucocutáneos, anogenitales y de garganta.

La extracción fue realizada en el instrumento EMAG® y la amplificación se realizó en ABI 7500 Fast.

Se añadieron los patógenos que se enumeran a continuación en altas concentraciones:

- en LCR, caracterizado como negativo en HSV1, HSV2 y VZV (estudio exclusivo).
- en LCR, donde se añadió HSV1, HSV2 y VZV con una concentración de 3,0 log₁₀ cp/mL para HSV1, 2,6 log₁₀ cp/mL para HSV2 y 3,1 log₁₀ cp/mL para VZV (estudio de interferencia biológica).

Virus: CMV, EBV, HHV6, HHV7, HHV8, BK Poliomavirus, JC Poliomavirus, Adenovirus: AdV 3, 4, 5, 8, 11, 12, 40, Parvovirus B19, Hepatitis A, B, C, HIV-1 (RNA), Influenza A/B, RSV A/B, hMPV A/B, Parainfluenzavirus 1, 2, 3, 4, Rinovirus (Rhinovirus 14, 87 y 1B), Coronavirus (NL63, OC43, 229E), Enterovirus (Enterovirus 71; Coxsackievirus B4, A9; Echovirus 9, 30), Parechovirus (HPeV1 y HPeV2), Paperas, Sarampión.

Bacterias: *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Legionella pneumophila*, *Morganella morganii*, *Mycobacterium avium*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Nocardia asteroides*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*.

Levaduras: *Candida albicans*, *Candida glabrata*.

Ninguno de los 73 patógenos incluidos en pruebas a altas concentraciones se detectó con el ensayo HSV1&2 VZV R-GENE®.

Ninguno de los 73 patógenos probados a altas concentraciones tuvo ningún efecto sobre el rendimiento del ensayo HSV1&2 VZV R-GENE®.

Nota: Estas pruebas han demostrado ausencia de secuencia de origen humano.

12.5.3. Sustancias interferentes

Nota: Según estudios realizados en productos ARGENE®, no se espera interferencia con las siguientes sustancias:

Inmunosupresores: Azatioprina, Ciclosporina, Micofenolato mofetilo, Tacrolimus, Sirolimus.

Antibióticos: Sulfametoxazol, Trimetoprim, Piperacilina, Tazobactam sódico, Clavulanato de potasio, Ticarcilina disódica, Cefotetan, Vancomicina, Levofloxacino, Espiramicina, Ciprofloxacino, Claritromicina.

Medicamentos contra el cáncer: Everolimus.

Corticosteroides: Prednisona.

Antifúngicos: Fluconazol.

Antivirales: Ganciclovir, Valganciclovir, Ribavirina, Cidofovir, Aciclovir, Foscavir.

Anti-Influenza A/B Antivirales: Oseltamivir, Zanamivir.

Descongestivos nasales: Fenilefrina HCl, Oximetazolina Hidrocloruro, Luffa Operculata, Galphimia Glauca, Histaminum Hydrochloricum, Cloruro sódico con conservantes.

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N.: 16.718

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

Anestésicos/analgésicos: Benzocaina.

Sustancias endógenas: Sangre total, Mucina purificada.

12.6. Estudio de rendimiento clínico

Se determinaron las características de rendimiento clínico de HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) en dos centros externos (laboratorio de virología del hospital de Estrasburgo y Alphabio Marseille [Francia]) y un centro interno (bioMérieux Grenoble) utilizando muestras biológicas de pacientes de estos centros de pruebas y de otros tres laboratorios (Centro nacional de referencia de herpesvirus en París, Unidad molecular de Poitiers y Centro de biorrecolección de Lyon [Francia]).

El objetivo de estos estudios fue comparar el rendimiento de la detección cualitativa y cuantitativa del kit actual HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) y el kit HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) en muestras biológicas de pacientes con signos patológicos indicativos de una infección por *herpesvirus*.

Todas las muestras incluidas en el estudio se extrajeron utilizando el instrumento EMAG®. Cada muestra extraída resultante se amplificó utilizando ABI 7500 Fast Dx en dos centros y LightCycler 480 en un centro con los kits HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) y HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) en paralelo (misma extracción y amplificación).

Análisis cualitativo:

El análisis cualitativo de cada virus (HSV1, HSV2 o VZV) se llevó a cabo de forma independiente. Sin embargo, para cada virus, se agruparon los resultados de diferentes tipos de muestras y diferentes centros de pruebas.

• **HSV1:**

Se demostró el rendimiento clínico de HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) para la detección cualitativa de HSV1 en 654 muestras prospectivas y retrospectivas en comparación con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) de la forma siguiente:

- 396 muestras positivas para HSV1 con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)
 - 31 Sangre total
 - 48 Plasma sanguíneo
 - 92 Lavado de líquido broncoalveolar (LBA)
 - 87 Frotis mucocutáneos
 - 27 Exudados laríngeos
 - 86 Frotis anogenital
 - 25 Líquido cefalorraquídeo (LCR)
- 258 muestras negativas para HSV1 con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)
 - 17 Sangre total
 - 79 Plasma sanguíneo
 - 6 Lavado de líquido broncoalveolar (LBA)
 - 50 Frotis mucocutáneos
 - 9 Exudados laríngeos
 - 76 Frotis anogenital
 - 21 Líquido cefalorraquídeo (LCR)

		HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)		Total
		+	-	
HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B)	+	383	5 ^b	388
	-	13 ^a	253	266
Total		396	258	654

Esta comparación de resultados cualitativos condujo a los grados de concordancia siguientes:

Concordancia porcentual positiva: 96,7 % [94,5; 98,2] %

Concordancia porcentual negativa: 98,1 % [95,5; 99,4] %

Concordancia porcentual general: 97,2 % [95,7; 98,4] %


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N.: 16.718


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

De 654 muestras analizadas, 18^(a+b) fueron discrepantes. Todas las muestras discrepantes se consideraron no críticas porque corresponden a muestras positivas débiles para HSV1, por debajo del LoD según el método con el que se encontró un resultado positivo, y con un CT entre 37 y 43 ciclos

• **HSV2:**

Se demostró el rendimiento clínico de HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) para la detección cualitativa de HSV2 en 791 muestras prospectivas y retrospectivas en comparación con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) de la forma siguiente:

- 229 muestras positivas para HSV2 con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)
 - 14 Sangre total
 - 25 Plasma sanguíneo
 - 21 Lavado de líquido broncoalveolar (LBA)
 - 54 Frotis mucocutáneos
 - 26 Exudados laríngeos
 - 78 Frotis anogenital
 - 11 Líquido cefalorraquídeo (LCR)
- 562 muestras negativas para HSV2 con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)
 - 71 Sangre total
 - 124 Plasma sanguíneo
 - 103 Lavado de líquido broncoalveolar (LBA)
 - 101 Frotis mucocutáneos
 - 47 Exudados laríngeos
 - 81 Frotis anogenital
 - 35 Líquido cefalorraquídeo (LCR)

		HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)		Total
		+	-	
HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B)	+	227	31 ^b	258
	-	2 ^a	531	533
Total		229	562	791

Esta comparación de resultados cualitativos condujo a los grados de concordancia siguientes:

Concordancia porcentual positiva: 99,1 % [96,9; 99,9] %

Concordancia porcentual negativa: 94,5 % [92,3; 96,1] %

Concordancia porcentual general: 95,8 % [94,2; 97,1] %

De 791 muestras analizadas, 33^(a+b) fueron discrepantes, entre ellas:

- 20 muestras discrepantes se consideraron no críticas porque corresponden a muestras con positividad débil para HSV2, por debajo del límite de detección (LoD) según el método con el que se encontró un resultado positivo, y con un CT entre 35 y 40 ciclos.
- 13 eran positivas según el método con el que se encontró un resultado positivo, con una carga viral por encima del LoD del kit correspondiente y con un CT entre 31 y 38 ciclos. La secuenciación del genoma de HSV2 confirmó la infección por HSV2 en todas estas muestras.

• **VZV:**

Se demostró el rendimiento clínico de HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) para la detección cualitativa de VZV en 361 muestras prospectivas y retrospectivas en comparación con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) de la forma siguiente:

- 181 muestras positivas para VZV con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)
 - 21 Sangre total
 - 31 Plasma sanguíneo
 - 98 Frotis mucocutáneos
 - 31 Líquido cefalorraquídeo (LCR)
- 180 muestras negativas para VZV con el kit HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)
 - 30 Sangre total

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

- 63 Plasma sanguíneo
- 40 Frotis mucocutáneos
- 47 Líquido cefalorraquídeo (LCR)

		HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B)		Total
		+	-	
HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B)	+	177	1 ^b	178
	-	4 ^a	179	183
Total		181	180	361

Esta comparación de resultados cualitativos condujo a los grados de concordancia siguientes:

Concordancia porcentual positiva: 97,8 % [94,4; 99,4] %

Concordancia porcentual negativa: 99,4 % [96,9; 100,0] %

Concordancia porcentual general: 98,6 % [96,8; 99,5] %

De 361 muestras analizadas, 5^(a+b) fueron discrepantes. Todas las muestras discrepantes se consideraron no críticas porque corresponden a muestras positivas débiles para VZV, por debajo del LoD según el método con el que se encontró un resultado positivo, y con un CT entre 38 y 40 ciclos.

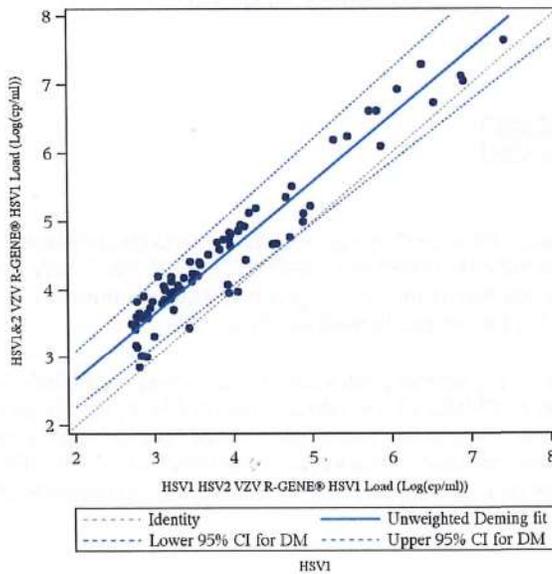
Análisis cuantitativo:

El análisis cuantitativo se realizó de forma independiente para cada virus (HSV1, HSV2 o VZV) y se agruparon los resultados de diferentes centros de pruebas. En algunos casos, se agruparon tipos de muestras (rango de medición común, diferencia promedio comparable entre los 2 kits).

• **HSV1:**

El análisis cuantitativo se llevó a cabo con 183 muestras prospectivas y retrospectivas positivas para HSV1 según ambos kits, HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) y HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B), dentro del rango de medición. Entre ellas había 21 de sangre total, 58 muestras de plasma sanguíneo, 68 de lavado broncoalveolar (LBA) y 36 de líquido cefalorraquídeo (LCR). El rango de medición indicado para el kit HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) es de 250 a 1,0E+08 cp/mL en muestras de LCR y entre 500 y 1,0E+08 cp/mL en muestras de sangre total, plasma sanguíneo y LBA.

◦ **HSV1 en sangre total y plasma sanguíneo**



Ecuación de regresión lineal de Deming:

$$Y = 0,9670X + 0,7507$$

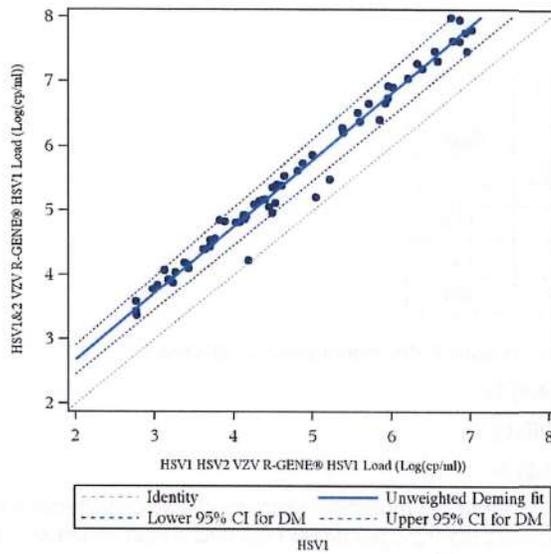
Coefficiente de correlación: $r = 0,9618$

La media de las diferencias entre ambos kits en valor absoluto es de 0,62 \log_{10} cp/mL, dentro del rango de medida indicado.

Maximiliano Milano
Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

Gabriel Mariano De León
Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

◦ HSV1 en lavado broncoalveolar



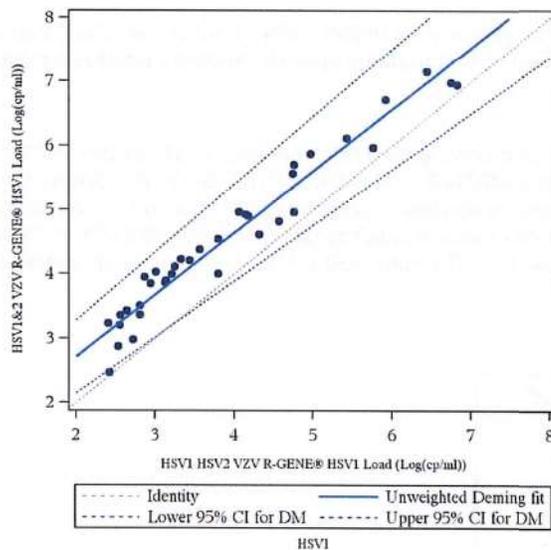
Ecuación de regresión lineal de Deming:

$$Y = 1,0368X + 0,6043$$

Coefficiente de correlación: $r = 0,9904$

La media de las diferencias entre ambos kits en valor absoluto es de 0,78 \log_{10} cp/mL, dentro del rango de medida indicado.

◦ HSV1 en líquido cefalorraquídeo



Ecuación de regresión lineal de Deming:

$$Y = 0,9639X + 0,7860$$

Coefficiente de correlación: $r = 0,9748$

La media de las diferencias entre ambos kits en valor absoluto es de 0,64 \log_{10} cp/mL, dentro del rango de medida indicado.

La dispersión de los valores, las ecuaciones de regresión lineal de Deming y los coeficientes de correlación muestran una buena correlación entre los kits HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) y HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) para distintos tipos de muestras. Para cada tipo de muestra (o grupo de tipos de muestra), la diferencia entre ambos kits es constante dentro de todos los rangos de medición indicados.

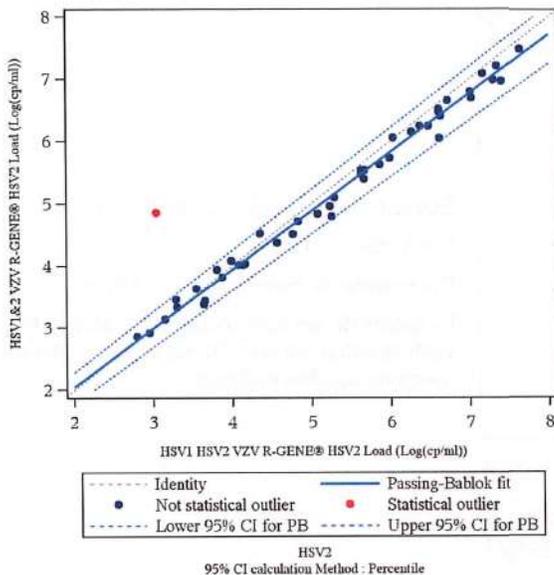
• **HSV2:**

El análisis cuantitativo se llevó a cabo con 68 muestras prospectivas y retrospectivas positivas para HSV2 según ambos kits, HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) y HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B), dentro del rango de medición. Entre ellas, había 13 muestras de sangre total, 15 de plasma sanguíneo, 17 de lavado broncoalveolar (LBA) y 23 de líquido cefalorraquídeo (LCR). El rango de medición indicado para el kit HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) es de 100 a 1,0E+08 cp/mL en muestras de LCR y entre 500 y 1,0E+08 cp/mL en muestras de sangre total, plasma sanguíneo y LBA.


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N.: 16.719


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
ONI 27.941.903

◦ HSV2 en sangre total y plasma sanguíneo y LBA



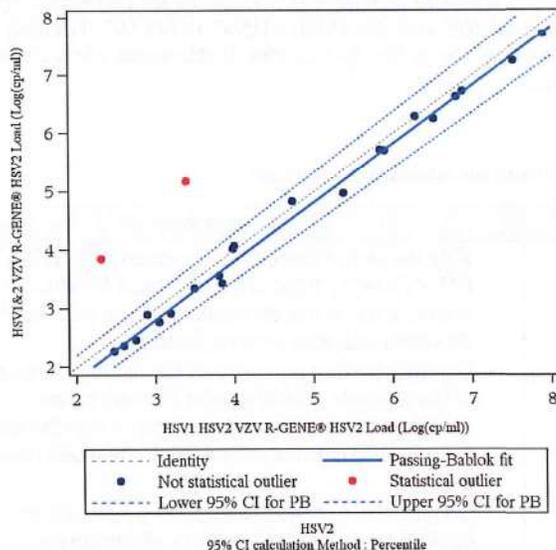
Ecuación de regresión lineal de Passing-Bablok:

$$Y = 0,9453X + 0,1611$$

Coefficiente de correlación: $r = 0,9749$

La media de las diferencias entre ambos kits en valor absoluto es de 0,10 \log_{10} cp/mL, dentro del rango de medida indicado.

◦ HSV2 en líquido cefalorraquídeo



Ecuación de regresión lineal de Passing-Bablok:

$$Y = 1,0057X - 0,2140$$

Coefficiente de correlación: $r = 0,9511$

La media de las diferencias entre ambos kits en valor absoluto es de 0,01 \log_{10} cp/mL, dentro del rango de medida indicado.

La dispersión de los valores, las ecuaciones de regresión lineal de Passing-Bablok y los coeficientes de correlación muestran una buena correlación entre los kits HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) y HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) para distintos tipos de muestras. Para cada tipo de muestra (o grupo de tipos de muestra), la diferencia entre ambos kits es constante dentro de todos los rangos de medición indicados. Se observaron tres valores estadísticamente atípicos con una cuantificación mayor con el kit HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) que se pudieron explicar por la mejora de la detección y cuantificación de algunas cepas de HSV2 con el nuevo kit HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B).

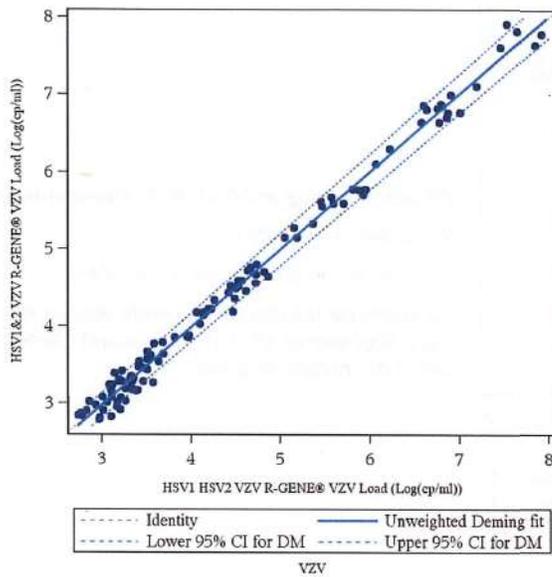
• **VZV:**

El análisis cuantitativo se realizó con 114 muestras positivas prospectivas y retrospectivas (dentro del rango de medición), incluidas 32 muestras de sangre total, 42 muestras de plasma sanguíneo y 40 muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR). El rango de medición indicado para el kit HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) es de 500 a $1,0E+08$ cp/mL en muestras de sangre total, plasma sanguíneo y líquido cefalorraquídeo.

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

◦ VZV en sangre total, plasma sanguíneo y líquido cefalorraquídeo



Ecuación de regresión lineal de Deming:

$$Y = 1,0097X - 0,0530$$

Coefficiente de correlación: $r = 0,9956$

La media de las diferencias entre ambos kits en valor absoluto es de $0,01 \log_{10} \text{ cp/mL}$, dentro del rango de medida indicado.

La dispersión de los valores, la ecuación de regresión lineal de Deming y el coeficiente de correlación muestran una buena correlación entre los kits HSV1&2 VZV R-GENE® (ref. 69-014B) y HSV1 HSV2 VZV R-GENE® (ref. 69-004B) para distintos tipos de muestras. Sea cual sea el tipo de muestra, la diferencia entre ambos kits es constante dentro del rango de medición indicado.

13. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

13.1. Patógeno no detectado o cuantificación infravalorada en muestras positivas

Causas posibles	Soluciones
Alteración de la premezcla de la amplificación.	<ul style="list-style-type: none"> • Siga las instrucciones del apartado <i>CONTENIDO DEL KIT Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO</i>. Las premezclas no deben descongelarse más del número de veces indicado en esta sección. • Compruebe que las premezclas de amplificación, los estándares de cuantificación y el control de sensibilidad se han vuelto a poner a una temperatura de $-15 \text{ }^{\circ}\text{C}/-31 \text{ }^{\circ}\text{C}$ inmediatamente después de cada uso. • Compruebe que las premezclas de amplificación, los estándares de cuantificación y el control de sensibilidad hayan sido descongelados a $+18 \text{ }^{\circ}\text{C}/+25 \text{ }^{\circ}\text{C}$. • Utilice un bloque frío ($+2 \text{ }^{\circ}\text{C}/+8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) a la hora de preparar y dispensar las premezclas.


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

Causas posibles	Soluciones
<p>Problema con las condiciones de recogida, transporte y almacenamiento de muestras en el laboratorio.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Siga las instrucciones de la sección <i>PREPARACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS</i>, donde se definen las condiciones óptimas (temperatura, tiempo) del transporte y el almacenamiento. • Está prohibido utilizar tubos con heparina para el análisis de muestras de sangre con kits ARGENE®. Utilizar solamente tubos con EDTA. • Los resultados de los tubos de recogida de sangre pueden variar de un fabricante a otro en función de los aditivos y materiales empleados. • Compruebe el periodo transcurrido entre la recogida de la muestra y su análisis.
<p>Problema con las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad de los kits ARGENE®.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Siga las instrucciones del apartado <i>CONTENIDO DEL KIT Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO</i>. Es necesario almacenar los kits ARGENE® a una temperatura entre -15 °C y -31 °C y protegidos de la luz.
<p>Problema de extracción.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Comprobar que las muestras hayan sido correctamente homogeneizadas antes de proceder con la extracción. • Comprobar el material y los protocolos utilizados para la extracción de las muestras. <p>El rendimiento del kit solo está validado para las extracciones que se describen en la sección <i>PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Efectúe siempre las tareas de mantenimiento preventivo de los dispositivos para extracción automatizada conforme a las recomendaciones del fabricante. • El IC2 utilizado con W0 y la muestra deben proceder del mismo lote.
<p>Calidad de muestra inadecuada.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Para muestras respiratorias, se recomienda el uso del control celular para aportar una indicación del recuento celular en la muestra. • CELL control R-GENE® (ref.: 71-106) permite la validación de la calidad de la muestra. Consulte las indicaciones contenidas en las instrucciones de uso correspondientes, que pueden descargarse en www.biomerieux.com/techlib.
<p>Error en la distribución de reactivos y muestras.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Comprobar el calibrado de las pipetas. • Comprobar que los volúmenes de los reactivos y de las muestras sean los correctos. • Compruebe que los reactivos y las muestras estén totalmente homogeneizados antes de dispensarlos en tubos.


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N.: 16.718


Gabriel Mañano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

Causas posibles	Soluciones
Error de programación.	<ul style="list-style-type: none"> • Compruebe todos los parámetros de programación introducidos (canal de detección, modo, número de ciclos, temperatura, tiempos, volumen de reacción). Hay hojas de programación disponibles bajo petición. Póngase en contacto con el representante local de BIOMÉRIEUX. • Revisar todos los pasos relativos a la introducción de las muestras. • Para las detecciones cuantitativas, compruebe las concentraciones registradas para los estándares de cuantificación. • En Rotor-Gene Q, para permitir una lectura correcta del colorante Cyanine 5 en el canal rojo, cuando se procesan varios parámetros juntos en el mismo rotor de PCR: <ul style="list-style-type: none"> ◦ un QS debe colocarse en la posición 1. ◦ O, en la pestaña Auto-Gain Optimisation Channel Settings, para los tres canales (Red, Yellow y Green), seleccione la Tube Position de un QS.
Problema de amplificación.	<ul style="list-style-type: none"> • Comprobar la eficiencia térmica del instrumento de PCR según el procedimiento recomendado por el fabricante. • Realice siempre un mantenimiento preventivo del aparato de PCR en tiempo real respetando las recomendaciones del fabricante. • Compruebe que los tubos estén cerrados y el anillo de fijación del carrusel Rotor-Gene Q esté correctamente bloqueado. • Si utiliza placas, compruebe la colocación y la adherencia de la cinta de sellado. • Compruebe que los desechables utilizados sean los recomendados en la sección <i>PROTOCOLO DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN EN TIEMPO REAL</i>.
Error en el análisis de los datos.	<ul style="list-style-type: none"> • Compruebe el ajuste de la línea de umbral. • Si va a utilizar Rotor-Gene Q para la amplificación, en caso de duda, utilice datos en bruto (curvas "de barrido"). Hay hojas de programación disponibles bajo petición. Póngase en contacto con el representante local de BIOMÉRIEUX. • Si el análisis se basa en la importación de un intervalo, compruebe que el intervalo importado sea válido: <ul style="list-style-type: none"> ◦ Al crear la curva patrón, compruebe que se cumplan todos los criterios necesarios para la importación posterior de la curva (consulte la sección <i>VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</i>). ◦ Solo es posible importar la curva patrón mediante QS3 si se cumplen dos condiciones: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Si los kits ARGENE® tienen el mismo número de lote. ▪ Si la curva patrón tiene menos de tres meses de antigüedad.

Causas posibles	Soluciones
<p>Error en la interpretación de los resultados.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Compruebe que se hayan cumplido TODOS los criterios de validación (consulte la sección <i>VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS</i>). • Con ABI: <ul style="list-style-type: none"> ◦ Compruebe que se haya tenido en cuenta la ausencia de fluorocromos de referencia (se debe haber seleccionado NONE en el campo PASSIVE REFERENCE). • Compruebe que los resultados obtenidos se hayan corregido mediante un archivo de compensación de color presente en el instrumento LightCycler 480. • Compare el resultado del control de extracción + inhibición (ICsample) para la muestra considerada sospechosa con el resultado del control de extracción + inhibición de referencia (ICW0) (consulte la sección <i>VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS</i>). Si es necesario, diluya la muestra.

13.2. Patógeno detectado o cuantificación sobrevalorada en muestras caracterizadas como negativas

Causas posibles	Soluciones
<p>Contaminación durante el experimento.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Siga todas las recomendaciones del apartado <i>PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN</i>. • Descontamine los bloques fríos con, por ejemplo, luz UV. • Respete todas las recomendaciones del fabricante para el mantenimiento de los instrumentos de extracción y amplificación. • Solo el personal cualificado debe manejar los kits ARGENE® y el material desechable.
<p>Error en la distribución de reactivos y muestras.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Comprobar el calibrado de las pipetas. • Compruebe que se distribuyan los volúmenes correctos. • Compruebe que los reactivos y las muestras estén totalmente homogeneizados antes de dispensarlos en tubos.
<p>Error de programación.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Compruebe todos los parámetros de programación introducidos (canal de detección, modo, número de ciclos, temperatura, tiempos, volumen de reacción). Hay hojas de programación disponibles bajo petición. Póngase en contacto con el representante local de BIOMÉRIEUX. • Revisar todos los pasos relativos a la introducción de las muestras. • Para las detecciones cuantitativas, compruebe las concentraciones registradas para los estándares de cuantificación.


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.

M.N: 16.718

bioMérieux SA

Español - 35


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.902

Causas posibles	Soluciones
<p>Error en el análisis de los datos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Compruebe el ajuste de la línea de umbral. • Si va a utilizar Rotor-Gene Q para la amplificación, en caso de duda, utilice datos en bruto (curvas "de barrido"). Hay hojas de programación disponibles bajo petición. Póngase en contacto con el representante local de BIOMÉRIEUX. • Si el análisis se basa en la importación de un intervalo, compruebe que el intervalo importado sea válido: <ul style="list-style-type: none"> ◦ Al crear la curva patrón, compruebe que se cumplan todos los criterios necesarios para la importación posterior de la curva (consulte la sección <i>VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</i>). ◦ Solo es posible importar la curva patrón mediante QS3 si se cumplen dos condiciones: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Si los kits ARGENE® tienen el mismo número de lote. ▪ Si la curva patrón tiene menos de tres meses de antigüedad.
<p>Error en la interpretación de los resultados.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Compruebe que se hayan cumplido TODOS los criterios de validación (consulte la sección <i>VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS</i>). • Con ABI: <ul style="list-style-type: none"> ◦ Compruebe que se haya tenido en cuenta la ausencia de fluorocromos de referencia (se debe haber seleccionado NONE en el campo PASSIVE REFERENCE). <p>Nota: Si utiliza simultáneamente kits que contengan y no contengan ROX, realice los dos tipos de análisis (con y sin referencia pasiva) que sean adecuados para cada situación/kit.</p> • Compruebe que los resultados obtenidos se hayan corregido mediante un archivo de compensación de color (FAM y HEX) presente en el instrumento LightCycler 480. • Compare el resultado del control de extracción + inhibición (ICsample) para la muestra considerada sospechosa con el resultado del control de extracción + inhibición de referencia (ICW0) (consulte la sección <i>VALIDACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS</i>). Si es necesario, diluya la muestra. • Si la cuantificación está por encima del límite superior, diluya la muestra para obtener un resultado dentro del intervalo de cuantificación.

13.3. Todas las muestras están inhibidas

Farm. Maximiliano Milano
 Director Técnico
 bioMérieux Argentina S.A.
 M.N: 16.718

Gabriel Mariano De León
 bioMérieux Argentina S.A.
 APODERADO
 DNI 27.941.903

Causas posibles	Soluciones
Problema de extracción.	<ul style="list-style-type: none"> Comprobar que las muestras hayan sido correctamente homogeneizadas antes de proceder con la extracción. Comprobar el material y los protocolos utilizados para la extracción de las muestras. El rendimiento del kit solo está validado para las extracciones que se describen en la sección PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS. Efectúe siempre las tareas de mantenimiento preventivo de los dispositivos para extracción automatizada conforme a las recomendaciones del fabricante.
El ICW0 no procede de la misma serie de extracción.	<ul style="list-style-type: none"> Compruebe que el IC extraído con ICW0 sea del mismo lote que el IC extraído con la muestra analizada. Cada serie de extracción deberá incluir su propio ICW0.

13.4. Interpretación de los estándares de cuantificación

Causas posibles	Soluciones
Lectura de canales.	<ul style="list-style-type: none"> Puede observarse una interferencia de 530 nm en 560 nm que da lugar a curvas de fluorescencia en 560 nm. QS de HSV1&2 VZV R-GENE® solo debe leerse en 530 nm y en 670 nm.

14. BIBLIOGRAFÍA

- Están disponibles pautas de programación bajo petición. Póngase en contacto con el representante local de BIOMÉRIEUX.
- Protocolo detallado "Worksheet easyMAG® Viral Whole Blood extraction protocol" de BIOMÉRIEUX.

Publicaciones:

- Kacy A. Ramirez, Asim F. Choudhri, Anami Patel, Noel T. Lenny, Rebecca E. Thompson, Leslie Berkelhammer Greenberg, Nancy Clanton Watson, Mehmet Kocak, John P. DeVincenzo. Comparing molecular quantification of herpes simplex virus (HSV) in cerebrospinal fluid (CSF) with quantitative structural and functional disease severity in patients with HSV encephalitis (HSVE): Implications for improved therapeutic approaches. *Journal of Clinical Virology*, Volume 107, October 2018, Pages 29-37.
- Emilie Frobert, Geneviève Billaud, Jean-Sébastien Casalegno, Daniel Eibach, David Goncalves, Jean-Michel Robert, Bruno Lina, Florence Morfin. The clinical interest of HSV1 semi-quantification in bronchoalveolar lavage. *Journal of Clinical Virology*, Volume 58, September 2013, Pages 265-268.
- Q. Lepiller, C. Sueur, M. Solis, H. Barth, L. Glady, F. Lefebvre, S. Fafi-Kremer, F. Schneider, F. Stoll-Keller. Clinical relevance of herpes simplex virus viremia in Intensive Care Unit patients. *Journal of Infection*, Volume 71, Issue 1, July 2015, Pages 93-100.
- J. Styczynski, P. Reusser, H. Einsele, R de la Camara, C. Cordonnier, KN Ward, P. Ljungman and D. Engelhard, for the European Conference on Infections in Leukemia. Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the Second European Conference on Infections in Leukemia. *Bone Marrow Transplantation* (2009) 43, 757-770.
- J.P. Stahl, P. Azouvi, F. Bruneel, T. De Broucker, X. Duval, B. Fantin, N. Girard, J.L. Herrmann, J. Honnorat, M. Lecuit, A. Mailles, L. Martinez-Almoyna, P. Morand, L. Piroth, P. Tattevin, The reviewing group. Guidelines on the management of infectious encephalitis in adults. *Médecine et maladies infectieuses* (2017) 47, 179-194.

Pósters:

- D. Boutolleau, M. Boivin, C. le Clec'h, I. Hourcq, S. Burrel. Evaluation of the new HSV1&2 VZV R-GENE® kit and the CELL control R-GENE® kits for the quantification of herpes simplex virus 1 genome in broncho-alveolar lavage from patients with bronchopneumonitis. ESCV, 2019

Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718

bioMérieux SA Español - 37

Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

2. D. Boutolleau, M. Boivin, C. le Clec'h, I. Hourcq, S. Burrel. Comparative evaluation of the new HSV1&2 VZV R-GENE® kit and a real-time PCR laboratory-developed test for the detection and quantification of varicella-zoster virus (VZV) genome in clinical samples. ESCV, 2019

15. TABLA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Conservar protegido de la luz

16. GARANTÍA LIMITADA

bioMérieux garantiza el rendimiento del producto para el uso previsto declarado siempre que todos los procedimientos para el uso, el almacenamiento y la manipulación, la vida útil (en su caso) y las precauciones se sigan estrictamente como se detalla en las instrucciones de uso.

A excepción de lo expresamente establecido anteriormente, bioMérieux por la presente renuncia a todas las garantías, incluyendo cualquier garantía implícita de comerciabilidad y adecuación para un propósito o uso particular, y se exime de toda responsabilidad, ya sea directa, indirecta o consecuente, de cualquier uso del reactivo, software, instrumento y desechables (el "Sistema") distinto a lo que se indica en las instrucciones de uso.

17. HISTÓRICO DE REVISIONES

Categoría de tipo de cambio

N/A	No aplica (primera modificación)
Corrección	Corrección de anomalías en la documentación
Cambio técnico	Adición, revisión y/o eliminación de información relativa al producto
Administrativo	Implementación de cambios no técnicos notables para el usuario

Nota: Los cambios menores de errores tipográficos, gramaticales y de formato no aparecen incluidos en el historial de revisiones.

Fecha de publicación	Versión	Tipo de cambio	Resumen de cambios
2019-01	049514-01	N/A	No aplica (primera modificación)


Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718


Gabriel Mariano De León
bioMérieux Argentina S.A.
APODERADO
DNI 27.941.903

Fecha de publicación	Versión	Tipo de cambio	Resumen de cambios
2019-11	049514-02	Cambio técnico	Principio de la prueba / Control de sensibilidad (SC) / Trazabilidad metrológica / Protocolo de extracción de muestras / Lavado de líquido broncoalveolar (LBA) / Protocolos de extracción validados con el kit / Programación de termocicladores / Preparación de la amplificación / Interpretación de los resultados / Sustancias interferentes / Patógeno no detectado o cuantificación infravalorada en muestras positivas / Patógeno detectado o cuantificación sobrevalorada en muestras caracterizadas como negativas / Interpretación de los estándares de cuantificación
		Administrativo	Reactivos y material necesarios pero no suministrados / Bibliografía Se han actualizado las menciones a Cyanine 5 a lo largo del documento.
2021-05	049514-02a	Corrección	Protocolo de detección/cuantificación en tiempo real

BIOMERIEUX, el logotipo de BIOMERIEUX, ARGENE, easyMAG, EMAG, NUCLISENS y R-GENE son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a BIOMERIEUX o a cada una de sus filiales, o a cada una de sus sociedades.

Los demás nombres o marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

La compra de este producto otorga los derechos del comprador contemplados en determinadas patentes de Roche para utilizar el producto exclusivamente con el objetivo de prestar servicios de diagnóstico in vitro humano.

Por la presente, BIOMÉRIEUX no otorga ninguna patente general u otra licencia de ningún tipo, aparte de este derecho específico de uso.

HotStarTaq es una marca registrada propiedad de QIAGEN GmbH, Hilden, Alemania, y licenciada a BIOMÉRIEUX. Los componentes QIAGEN contenidos en este producto han sido desarrollados y fabricados por QIAGEN GmbH, Hilden, Alemania.

La marca ATCC, la denominación ATCC y todas las referencias de catálogo ATCC son marcas de American Type Culture Collection.



Farm. Maximiliano Milano
Director Técnico
bioMérieux Argentina S.A.
M.N: 16.718



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Hoja Adicional de Firmas
Informe gráfico

Número:

Referencia: Rótulos EX-2021-49769902- -APN-DGA#ANMAT

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 42 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.03.10 10:54:03 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.03.10 10:54:06 -03:00