



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N°

9 4 2 9

BUENOS AIRES,

11 NOV 2015

VISTO el expediente N° 1-47-3110-421/15-5 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOSYSTEMS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado 1) Legionella pn Q- PCR Alert Kit / prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos para la búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) en muestras de ADN extraído de esputo, lavados bronqueoalveolares y aspirados traqueales; y 2) Legionella pn. Positive Control/ control positivo de las pruebas cualitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*.

Que a fojas 132 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

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

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

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92, 1886/14 y 1368/15.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN Nº 9 4 2 9

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso in Vitro denominado 1) Legionella pn Q- PCR Alert Kit / prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos para la búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) en muestras de ADN extraído de esputo, lavados bronqueoalveolares y aspirados traqueales; y 2) Legionella pn. Positive Control/ control positivo de las pruebas cualitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*, el que será elaborado por ELITechGroup S.p.A. Corso Svizzera 185, Torino 10149 (ITALIA) e importado terminado por la firma BIOSYSTEMS S.A. en envases conteniendo: 1) Legionella pn. Q- PCR Alert AmpliMIX: mezcla de oligonucleótidos primers (LEGIO. pn. AmpliMIX: 4 x 110µl), Legionella pn. Q- PCR Alert AmpliPROBE: mezcla de sondas fluorescentes marcadas (LEGIO. pn. AmpliPROBE: 4 x 110µl), Q - PCR Alert AmpliMASTER: mezcla de reactivos optimizados (Q-AmpliMASTER: 4 x 340µl), Microplaca de amplificación (Amplification Sealing Sheet: 3) y lamina adhesiva para amplificación (Amplification microplate: 3), para 96 determinaciones; y 2) solución control (LEGIO. pn. Positive Control: 2 x 65µl), para 25 determinaciones, con una vida útil de 1) Legionella pn. Q- PCR Alert AmpliMIX y Legionella pn. Q- PCR Alert



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N.M.A.T

DISPOSICIÓN N°

9 4 2 9

AmpliPROBE: DIECIOCHO (18) MESES desde la fecha de elaboración, conservado a -20°C; y Q- PCR Alert AmpliMASTER: DIECIOCHO (18) MESES desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C; 2) DIECIOCHO (18) MESES desde la fecha de elaboración, conservado a -20°C y que la composición se detalla a fojas 84 y 85.

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 19 a 83 (desglosándose fjs. 19 a 24 y 37 a 51) debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MEDICA se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese, gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición, junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

EXPEDIENTE N° 1-47-3110-421/15-5

DISPOSICIÓN N°:

Fd

9 4 2 9

Ing ROGELIO LOPEZ
3 Administrador Nacional
A.N.M.A.T.

U. Alejandro Diez
Apodadoro
Biosystems S.A.

914290476



ELITechGroup
MOLECULAR DIAGNOSTICS

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY

Oficinas: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
sitio WEB: www.elitechgroup.com

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-P



USO PREVISTO	pág. 1
PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO	pág. 1
MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 2
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 2
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS	pág. 2
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	pág. 2
PROCEDIMIENTO	pág. 4
BIBLIOGRAFÍA	pág. 4
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS	pág. 4

USO PREVISTO

El producto «**LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE**» forma parte de una prueba cualitativa de amplificación de los ácidos nucleicos para la búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) en muestras de ADN extraído de esputo, lavados broncoalveolares (BAL), aspirados traqueobronquiales (BA).

El producto se utiliza, junto con datos clínicos y otros exámenes de laboratorio, para el diagnóstico y monitoreo de la infección por *L. pneumophila*.

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

El producto provee la mezcla de sondas fluorescentes **AmpliPROBE** para la amplificación real time en una solución de estabilizadora, previamente dosificada en cuatro probetas desechables. Cada probeta contiene 110 µL de solución, suficientes para 24 reacciones.

La sonda marcada con el fluoróforo FAM y bloqueada por el grupo MGB-NFQ es específica para una región del gen mip de *L. pneumophila*.

La sonda para el control interno de idoneidad de la muestra, marcada con el fluoróforo VIC y bloqueada por el grupo MGB-NFQ, es específica para la región promotora y 5' UTR del gen humano de la beta globina.

El procedimiento prevé la realización de una reacción de amplificación real time en microplaca con un termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia (thermal cycler para real time).

La estandarización del sistema ha sido realizada en equipos Applied Biosystems ABI PRISM de la serie 7000.

El producto permite efectuar **96 determinaciones**, estándar y controles incluidos.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-P

MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Composición	Etiquetado
LEGIO. pn. AmpliPROBE	mezcla de sondas fluorescentes marcadas con FAM / MGB-NFQ y con VIC / MGB-NFQ.	4 x 110 µL	Oligonucleótidos fluorescentes, TRIS base, TRIS clorhidrato, Glicerol, Trilon X-100	-

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar
- Guantes sin polvo descartables de látex o similares.
- Mezclador vortex.
- Microcentrifuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y tips estériles con filtro para aerosol o de dispensación positiva (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Agua bidestilada estéril.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia.

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

Los reactivos para la extracción del ADN de las muestras a analizar, el control positivo de extracción, los reactivos optimizados para la amplificación, los reactivos primers (oligonucleótidos) y el control positivo de amplificación no están incluidos en este producto. Para realizar estas fases analíticas se aconseja la utilización de los siguientes productos accesorios producidos por ELITechGroup S.p.A.:

- «**EXTRAcell**» (código EXT02), kit de extracción del ADN de muestras celulares; el kit permite efectuar 50 extracciones.
- «**CPE-DNA - Internal Control**» (código CTREXTG) o «**CPE - Internal Control**» (código CTRCPE), control positivo de extracción de ADN plasmídico para extracciones del ADN de muestras no celulares.
- «**Q - PCR Alert AmpliMASTER**» (código RTS000), mezcla de reactivos optimizados, microplacas y láminas adhesivas para la amplificación real time, el producto permite efectuar 96 reacciones.
- «**LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX**» (código RTS096-M), sondas fluorescentes para la amplificación real time; el producto permite efectuar 96 reacciones.
- «**LEGIONELLA pn. - Positive Control**» (código CTR096), control positivo de ADN plasmídico; el producto permite efectuar para 16 sesiones.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo in vitro.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudiesen transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No producir salpicaduras ni aerosol. El material que está en contacto con las muestras biológicas debe ser tratado con hipoclorito de sodio al 3% por al menos 30 minutos o bien tratado en autoclave a 121°C durante una hora antes de ser eliminado.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales utilizados para realizar la prueba como si fuesen potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No producir salpicaduras ni aerosol. Los residuos deben ser tratados y eliminados según normas de seguridad adecuadas. El material combustible monouso debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben ser neutralizados antes de la eliminación.

DRA. SHYNAZANIELA
DIRECCIÓN TÉCNICA
BIOSYSTEMS S.A.



LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-P

- Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos / la cara.
- No pipetear con la boca ninguna solución.
- No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.
- Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.
- Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.
- Leer todas las instrucciones provistas en el kit antes de realizar la prueba.
- Respetar las instrucciones provistas en el producto durante la ejecución de la prueba.
- Respetar la fecha de caducidad del producto.
- Utilizar sólo los reactivos presentes en el producto y los aconsejados por el fabricante.
- No intercambiar reactivos que provengan de lotes diferentes.
- No utilizar reactivos que provengan de productos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la transcripción inversa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, requieren personal instruido para evitar el riesgo de resultados incorrectos, en particular a causa de la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o de la contaminación de las mismas por parte de productos de amplificación.

Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación o para la amplificación / detección de los productos de amplificación. Nunca introducir un producto de amplificación en el área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos destinados para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de productos de amplificación. Nunca transferir batas, guantes e instrumentos del área de amplificación / detección de productos de amplificación al área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben ser destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las probetas que contengan muestras diferentes nunca deben ser abiertas al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosol. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los productos de amplificación deben ser manipulados en modo de limitar al máximo su dispersión en el ambiente para evitar contaminaciones. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben ser destinadas sólo a este uso.

Advertencias y precauciones específicas para los reactivos

Las probetas que contienen el **AmpliPROBE** son desechables y por lo tanto deben utilizarse sólo una vez en la preparación de la mezcla de reacción.

Para **AmpliPROBE** se debe tener en cuenta los siguientes consejos de prudencia (S):
S 23-25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-P

PROCEDIMIENTO

El producto «**LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE**» debe utilizarse con los productos «**Q - PCR Alert AmpliMASTER**» y «**LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX**» para obtener la mezcla de reacción.

El **AmpliPROBE** está listo para su uso, por lo tanto debe utilizarse agregándolo directamente a la mezcla de reacción.

El procedimiento completo, que prevé la preparación y la realización de una reacción de amplificación real time en microplaca con un termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia (thermal cycler para real time), se describe de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta al producto «**LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX**».

Las características de las prestaciones y los límites del procedimiento de la prueba completa de búsqueda y dosaje del ADN de *L. pneumophila* se describen de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta al producto «**LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX**».

BIBLIOGRAFIA

M. Koide et al. (1995) *Clin Inf Dis* 21: 199 - 201

SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

- REF** Número de catálogo.
-  Límite superior de temperatura.
- LOT** Código de lote.
-  Utilizar antes del último día del mes.
- IVD** Dispositivo médico diagnóstico *in vitro*.
- CE** Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 9879/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos *in vitro*.
-  Contenido suficiente para "N" test.
-  Atención, consultar las instrucciones de uso.
-  Fabricante.

La adquisición de este producto permite al comprador su utilización para la amplificación y detección de secuencias de ácidos nucleicos para proveer servicios de diagnóstico humano *in vitro*. Este derecho es otorgado sólo si el producto provisto se utiliza junto con los productos con licencia "Positive Control" y "Q - PCR Standard" de ELITechGroup S.p.A.
Por medio de la adquisición no se otorga ningún derecho general u otra licencia de tipo diferente de este derecho específico de uso.

Lic. Alejandro Díez
Apobérica
Biosystems S.A.

6246

Dra. SILVINA ZANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14 421
BIOSYSTEMS S.A.

U. Alejandro Diez
Apoderado
Biosystems S.A.

6276



**REAL-TIME
Alert
Q-PCR**

ELITechGroup
MOLECULAR DIAGNOSTICS
ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY
Officinas: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
sitio WEB: www.elitechgroup.com

Q - PCR Alert AmpliMASTER

reactivos optimizados para la amplificación real time

REF RTS000
RTS000/2



+2°C +8°C

INDICE

USO PREVISTO

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO
MATERIAL PROVISTO EN EL KIT
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL KIT
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES
PROCEDIMIENTO
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

pág. 1
pág. 1
pág. 2
pág. 2
pág. 2
pág. 3
pág. 4
pág. 4

USO PREVISTO

El producto «Q - PCR Alert AmpliMASTER» forma parte de pruebas cuantitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la búsqueda y el dosaje de un ADN blanco con el método de amplificación real time en muestras de ADN extraído o de ADNc obtenido de ARN extraído. El producto, es un accesorio de los productos de la serie «Q - PCR Alert AmpliMIX», «Q - PCR Alert AmpliPROBE», «Q - PCR Standard» y «Positive Control», de ELITechGroup S.p.A.

El producto se usa en la preparación de pruebas diagnósticas basadas en el método de amplificación real time.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto en el formato completo (código RTS000) provee la mezcla de reactivos optimizados para la amplificación real time AmpliMASTER, en una solución estabilizadora dosificada en cuatro probetas y lista para su uso, tres Microplacas para amplificación de 96 pocillos y tres Láminas adhesivas para amplificación.

El producto en el formato reducido (código RTS000/2) provee la mezcla de reactivos optimizados para la amplificación real time AmpliMASTER, en una solución estabilizadora dosificada en dos probetas y lista para su uso, dos Microplacas para amplificación de 96 pocillos y dos Láminas adhesivas para amplificación.

La mezcla de reactivos provee: el sistema tampón, el cloruro de magnesio y los nucleótidos trifosfatos, el fluoróforo de referencia pasivo ROX para la normalización de la fluorescencia, la enzima Uracil-N-glucosidasa (UNG) para la inactivación de las contaminaciones por productos de amplificación y la enzima Taq ADN polimerasa de activación térmica (hot Start).

Nota: las Microplacas para amplificación no deben ser utilizadas con los equipos Applied Biosystems de la serie 7000, que tienen montado el bloque térmico "FAST".

Q - PCR Alert AmpliMASTER

reactivos optimizados para la amplificación real time

REF RTS000
RTS000/2

El producto en el formato completo (código RTS000) permite efectuar 96 determinaciones, estándar y controles incluidos.

El producto en el formato reducido (código RTS000/2) permite efectuar 48 determinaciones, estándar y controles incluidos.

MATERIAL PROVISTO EN EL KIT

Producto formato completo código RTS000

Componente	Descripción	Cantidad	Composición	Etiquetado
AmpliMASTER	mezcla de reactivos optimizados	4 x 340 µL	TRIS base, TRIS clorhidrato, Glicerol, Cloruro de magnesio, Desoxirribonucleótidos trifosfatos, ROX, Uracil-N-glucosidasa, Taq ADN polimerasa	-
Microplaca para amplificación	microplaca de 96 pocillos de 0,2 mL	3	-	-
Lámina adhesiva para amplificación	lámina adhesiva selladora	3	-	-

Producto formato reducido código RTS000/2

Componente	Descripción	Cantidad	Composición	Etiquetado
AmpliMASTER	mezcla de reactivos optimizados	2 x 340 µL	TRIS base, TRIS clorhidrato, Glicerol, Cloruro de magnesio, Desoxirribonucleótidos trifosfatos, ROX, Uracil-N-glucosidasa, Taq ADN polimerasa	-
Microplaca para amplificación	microplaca de 96 pocillos de 0,2 mL	2	-	-
Lámina adhesiva para amplificación	lámina adhesiva selladora	2	-	-

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL KIT

- Campana de flujo laminar.
- Guantes descartables de látex o similares.
- Mezclador vortex.
- Microcentrífuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y tips estériles con filtro para aerosol o de desplazamiento positivo (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Agua bidestilada estéril.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia (thermal cycler para real time).

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

Los reactivos primers (oligonucleótidos), los reactivos de detección (sondas fluorescentes), los ADN estándar de cantidad conocida y los controles heterocigotas de ADN plasmídico no están incluidos en este kit. Para realizar estas fases analíticas se aconseja la utilización de los siguientes kits de accesorios producidos por ELITechGroup S.p.A.:

serie «Q - PCR Alert AmpliMIX», oligonucleótidos primers para la amplificación real time.

serie «Q - PCR Alert AmpliPROBE», sondas fluorescentes para la amplificación real time.

serie «Q - PCR Standard», ADN plasmídico de cantidad conocida para obtener la curva estándar.

serie «Positive Control», control heterocigota de ADN plasmídico.

Dra. SIMONA ZANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.



Q - PCR Alert AmpliMASTER
reactivos optimizados para la amplificación real time

REF RTS000
RTS000/2

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este kit es para uso exclusivo *in vitro*.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudiesen transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No producir salpicaduras ni aerosol. El material que está en contacto con las muestras biológicas debe ser tratado con hipoclorito de sodio al 3% por al menos 30 minutos o bien tratado en autoclave a 121°C durante una hora antes de ser eliminado.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales utilizados para realizar la prueba como si fuesen potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No producir salpicaduras ni aerosol. Los residuos deben ser tratados y eliminados según normas de seguridad adecuadas. El material de uso único combustible debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos deben ser neutralizados antes de la eliminación.

- Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos / la cara.
- No pipetear con la boca ninguna solución.
- No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.
- Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.
- Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.
- Leer todas las instrucciones provistas en el kit antes de realizar la prueba.
- Respetar las instrucciones provistas en el kit durante la ejecución de la prueba.
- Respetar la fecha de caducidad del kit.
- Utilizar sólo los reactivos presentes en el kit y los aconsejados por el fabricante.
- No intercambiar reactivos que provengan de lotes diferentes.
- No utilizar reactivos que provengan de kits de otros fabricantes

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la transcripción inversa, la amplificación y la revelación de ácidos nucleicos, requieren de personal instruido para evitar el riesgo de resultados incorrectos, en particular a causa de la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o de la contaminación de las mismas por parte de productos de amplificación.

Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción/ preparación de las reacciones de amplificación o para la amplificación / detección de los productos de amplificación. Nunca introducir un producto de amplificación en el área de extracción/ preparación de las reacciones de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos destinados para la extracción/ preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de productos de amplificación. Nunca transferir batas, guantes e instrumentos del área de amplificación / detección de productos de amplificación al área de extracción/ preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben ser destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las probetas que contengan muestras diferentes nunca deben ser abiertas al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o usar tips con filtro para aerosol. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los productos de amplificación deben ser manipulados en modo de limitar al máximo su dispersión en el ambiente para evitar contaminaciones. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben ser destinadas sólo a este uso.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes.

Con la **AmpliMASTER** se deben tener en cuenta las siguientes precauciones (S):

S 23-25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos.

Q - PCR Alert AmpliMASTER
reactivos optimizados para la amplificación real time

REF RTS000
RTS000/2

PROCEDIMIENTO

El kit «Q - PCR Alert AmpliMASTER» debe utilizarse con los kits de la serie «Q - PCR Alert AmpliMIX» y «Q - PCR Alert AmpliPROBE» para obtener la mezcla de reacción.

AmpliMASTER está listo para usar, por lo tanto debe utilizarse directamente en la preparación de la mezcla de reacción.

El procedimiento completo, que prevé la preparación y la realización de una reacción de amplificación real time en microplaca con un termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia (thermal cycler para real time), se describe de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta a los kits de la serie «Q - PCR Alert AmpliMIX».

Las características de las prestaciones y los límites del procedimiento de la prueba completa de búsqueda y dosaje de ADN blanco se describen de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso adjunto a los kits de la serie «Q - PCR Alert AmpliMIX».

SIGNIFICADO DE LOS SIMBOLOS



Número de catálogo.



Límites de temperatura.



Código de lote.



Utilizar antes del último día del mes.



Dispositivo médico diagnóstico *in vitro*.



Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos *in vitro*



Contenido suficiente para "N" test.



Atención, consultar las instrucciones de uso.



Fabricante.

La adquisición de este producto permite al comprador utilizarlo para la amplificación de secuencias de ácidos nucleicos con el fin de proveer servicios de diagnóstico humano *in vitro*. Este derecho es otorgado sólo si el producto suministrado se utiliza junto a productos con licencia "Positive Control" o "Q - PCR Standard", de EUTechGroup S.p.A. Por medio de la adquisición no se otorga ningún derecho general u otra licencia de tipo diferente de este derecho específico de uso.

6276
Kienrich Diez
aprobado
BioSystems S.A.

Dra. SILVIA ZANELLA
DIRECTORA TECNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.



LA Alpendro Diez-
Apóstola
Biosystems S.A.

6276

LEGIONELLA pn. - Positive Control
mip

REF CTR096

Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos o la cara.
No pipetear con la boca ninguna solución.
No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.
Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.
Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.
Leer todas las instrucciones provistas en el kit antes de realizar la prueba.
Respetar las instrucciones provistas en el producto durante la ejecución de la prueba.
Respetar la fecha de caducidad del producto.
Utilizar sólo los reactivos presentes en el producto y los aconsejados por el fabricante.
No intercambiar reactivos que provengan de lotes diferentes.
No utilizar reactivos que provengan de productos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la transcripción inversa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, requieren personal instruido para evitar el riesgo de resultados incorrectos, en particular a causa de la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o de la contaminación de las mismas por parte de productos de amplificación.

Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación o para la amplificación / detección de los productos de amplificación. Nunca introducir un producto de amplificación en el área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos destinados para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de productos de amplificación. Nunca transferir batas, guantes e instrumentos del área de amplificación / detección de productos de amplificación al área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben ser destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las probetas que contengan muestras diferentes nunca deben ser abiertas al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosol. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los productos de amplificación deben ser manipulados en modo de limitar al máximo su dispersión en el ambiente para evitar contaminaciones. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben ser destinadas sólo a este uso.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes

Las probetas que contienen el **Positive Control** deben ser congeladas y descongeladas por un máximo de **doce veces**. Otros ciclos de congelación / descongelación podrían causar una pérdida de título.

Con el **Positive Control** se deben tener en cuenta los siguientes consejos de prudencia (S):

S 23-25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos.

PROCEDIMIENTO

El producto «LEGIONELLA pn. - Positive Control» debe ser utilizado con los productos «Q - PCR Alert AmpliMASTER», «LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX» y «LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE».

LEGIONELLA pn. - Positive Control
mip

REF CTR096

El **Positive Control** está listo para su uso, por lo tanto debe utilizarse agregándole 5 µL directamente a la mezcla de reacción.

El procedimiento completo, que prevé la preparación y la realización de una reacción de amplificación con un termostato programable (thermal - cycler), se describe de manera detallada en el manual de instrucciones de uso adjunto al producto «LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX».

Las características de las prestaciones y los límites del procedimiento de la prueba completa para la búsqueda del ADN de *L. pneumophila* se describen de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta al producto «LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX».

Nota: El **Positive Control** puede ser congelado y descongelado hasta **doce veces**.

BIBLIOGRAFÍA

M. Koide et al. (1995) *Clin Inf Dis* 21: 199 - 201

SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

- REF Número de catálogo.
- Límite superior de temperatura.
- LOT Código de lote.
- Utilizar antes del último día del mes.
- Dispositivo médico diagnóstico *in vitro*.
- Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos *in vitro*.
- Contenido suficiente para "N" test.
- Atención, consultar las instrucciones de uso.
- Fabricante.

La adquisición de este producto permite al comprador utilizarlo para la amplificación de secuencias de ácidos nucleicos con el fin de proveer servicios de diagnóstico humano *in vitro*. Este derecho es otorgado sólo si el producto suministrado se utiliza junto a productos con licencia para la amplificación y para la detección de ELTechGroup S.p.A.
Por medio de la adquisición no se otorga ningún derecho general u otra licencia de tipo diferente de este derecho específico de uso.

D/ra SILVIA ZANANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.



LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M



INDICE

USO PREVISTO	pág. 1
PRINCIPIO DE LA PRUEBA	pág. 2
PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO	pág. 2
MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 2
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 2
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS	pág. 3
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	pág. 3
MUESTRAS Y CONTROLES	pág. 4
PROCEDIMIENTO	pág. 5
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	pág. 10
CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES	pág. 11
BIBLIOGRAFÍA	pág. 14
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	pág. 15
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS	pág. 16

USO PREVISTO

El producto «LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX» forma parte de una prueba cualitativa de amplificación de los ácidos nucleicos para la búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) en muestras de ADN extraído de esputo, avados broncoalveolares (BAL), aspirados traqueobronquiales (BA).

El producto se utiliza, junto con datos clínicos y otros exámenes de laboratorio, para el diagnóstico y monitoreo de la infección por *L. pneumophila*.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El procedimiento prevé la realización de una reacción de amplificación real time en microplaca con un termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia (thermal cycler para real time).

En cada pocillo se efectúa una reacción de amplificación específica para una región del gen *mip* de *L. pneumophila* y para una región del gen humano de la **beta globina** (control interno de inhibición) utilizando el ADN extraído de las muestras en examen. Una sonda específica para *L. pneumophila* marcada con el fluoróforo FAM se activa cuando hibrida con el producto específico de la reacción de amplificación para *L. pneumophila*. Otra sonda específica para el gen humano de la beta globina marcada con el fluoróforo VIC se activa cuando hibrida con el producto de la reacción de amplificación para el gen humano de la beta globina. La emisión de la fluorescencia aumenta al aumentar los productos específicos de la reacción de amplificación y es medida y registrada por el equipo. La elaboración de los datos permite determinar la presencia del ADN de *L. pneumophila* en la muestra de partida.

La estandarización del sistema ha sido realizada en equipos Applied Biosystems ABI PRISM de la serie 7000.

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

El producto provee la mezcla de oligonucleótidos primers AmpliMIX para la amplificación real time en una solución de estabilizadora, previamente dosificada en cuatro probetas desechables. Cada probeta contiene 110 µL de solución, suficientes para 24 reacciones.

Los oligonucleótidos primers para *L. Pneumophila* son específicos para una región del gen *mip* de *L. pneumophila*.

Los oligonucleótidos primers para el control interno de idoneidad de la muestra son específicos para la región **promotor** y 5' UTR del gen humano de la **beta globina**.

El producto permite efectuar **96 determinaciones**, controles positivos y negativos incluidos.

MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Composición	Etiquetado
LEGIO. pn. AmpliMIX	mezcla de oligonucleótidos primers	4 x 110 µL	Oligonucleótidos, TRIS base, TRIS clorhidrato, Glicerol, Triton X-100	-

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de látex o similares.
- Mezclador vortex.
- Microcentrifuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y tips estériles con dispensación positiva (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Agua bidestilada estéril.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia.



LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

Los reactivos para la extracción del ADN de las muestras a analizar, el control positivo de extracción, los reactivos optimizados para la amplificación, los reactivos de detección (sondas fluorescentes) y el control positivo de amplificación no están incluidos en este producto. Para realizar estas fases analíticas se aconseja la utilización de los siguientes productos accesorios producidos por ELITechGroup S.p.A.:

- «EXTRAcell» (código EXT02), kit de extracción del ADN de muestras celulares; el kit permite efectuar 50 extracciones.
- «CPE-DNA - Internal Control» (código CTREXTG) o «CPE - Internal Control» (código CTCPE), control positivo de extracción de ADN plasmídico para extracciones del ADN de muestras no celulares.
- «Q - PCR Alert AmpliMASTER» (código RTS000), mezcla de reactivos optimizados, microplacas y láminas adhesivas para la amplificación real time; el producto permite efectuar 96 reacciones.
- «LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE» (código RTS096-P), sondas fluorescentes para la amplificación real time; el producto permite efectuar 96 reacciones.
- «LEGIONELLA pn. - Positive Control» (código CTR096), control positivo de ADN plasmídico; el producto permite efectuar para 25 sesiones.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo *in vitro*.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudiesen transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No producir salpicaduras ni aerosol. El material que está en contacto con las muestras biológicas debe ser tratado con hipoclorito de sodio al 3% por al menos 30 minutos o bien tratado en autoclave a 121°C durante una hora antes de ser eliminado.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales utilizados para realizar la prueba como si fuesen potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No producir salpicaduras ni aerosol. Los residuos deben ser tratados y eliminados según normas de seguridad adecuadas. El material combustible monouso debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben ser neutralizados antes de la eliminación.

- Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos / la cara.
- No pipetear con la boca ninguna solución.
- No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.
- Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.
- Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.
- Leer todas las instrucciones provistas en el kit antes de realizar la prueba.
- Respetar las instrucciones provistas en el producto durante la ejecución de la prueba.
- Respetar la fecha de caducidad del producto.
- Utilizar sólo los reactivos presentes en el producto y los aconsejados por el fabricante.
- No intercambiar reactivos que provengan de lotes diferentes.
- No utilizar reactivos que provengan de productos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la transcripción inversa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, requieren personal instruido para evitar el riesgo de resultados incorrectos, en particular a causa de la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o de la contaminación de las mismas por parte de productos de amplificación.

Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación o para la amplificación / detección de los productos de amplificación. Nunca introducir un producto de amplificación en el área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos destinados para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de productos de amplificación. Nunca transferir batas, guantes e instrumentos del área de amplificación / detección de productos de amplificación al área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben ser destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las probetas que contengan muestras diferentes nunca deben ser abiertas al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosol. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los productos de amplificación deben ser manipulados en modo de limitar al máximo su dispersión en el ambiente para evitar contaminaciones. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben ser destinadas sólo a este uso.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes

Las probetas que contienen AmpliMIX son desechables y por lo tanto deben utilizarse sólo una vez en la preparación de la mezcla de reacción.

Para AmpliMIX se debe tener en cuenta los siguientes consejos de prudencia (S):
S 23-25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos.

MUESTRAS Y CONTROLES

Muestras

Este producto debe ser utilizado con ADN extraído de las siguientes muestras biológicas: esputo, lavados broncoalveolares (BAL), aspirados traqueobronquiales (BA).

Las muestras de esputo, lavado broncoalveolar y de aspirado traqueobronquial destinadas a la extracción del ADN deben ser recolectadas según las indicaciones del laboratorio en Solución fisiológica estéril, transportadas a +2°/ +8 C° y conservadas a +2°/ +8 C° por un máximo de tres días.

No congelar las muestras de esputo, lavado broncoalveolar y aspirado traqueobronquial con el fin de evitar la lisis de las células y la pérdida de título del ADN bacteriano.

Las instrucciones para el pretratamiento de la muestra clínica y para la extracción del ADN están incluidas en el Manual de instrucciones de uso del kit «EXTRAcell».

Sustancias interferentes

El ADN extraído de la muestra de partida no debe contener mucoproteínas y hemoglobina para evitar fenómenos de inhibición y la aparición de frecuentes resultados no válidos.

No son disponibles datos referidos a eventuales fenómenos de inhibición por parte de fármacos antibióticos, antivirales, quimioterápicos o inmunosupresores.

Controles de amplificación

Es absolutamente necesario convalidar cada una de las sesiones de amplificación preparando una reacción de control negativo y una reacción de control positivo.

Para el control negativo utilizar agua bidestilada estéril (no provista en el producto) agregándola a la reacción en lugar del ADN extraído de la muestra.

Para el control positivo utilizar el producto «LEGIONELLA pn. - Positive Control».

Controles de calidad

Se aconseja confirmar todo el procedimiento de análisis de cada una de las sesiones, extracción y amplificación, utilizando una muestra negativa y una muestra positiva ya testadas o del material de referencia calibrado.

Ux Meléndez Diez
Apodado
BIO SYSTEMS S.A.

629
476

Dña SILVINA ZANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIO SYSTEMS S.A.



LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

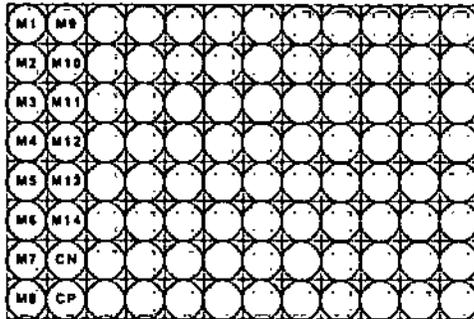
PROCEDIMIENTO

Programación de la sesión de amplificación real time
(A realizarse en el área de extracción / visualización de los productos de amplificación)

Antes de iniciar la sesión es necesario:

- tomando como referencia la documentación del equipo, encender el thermal cycler para real time, encender el computador de control, iniciar el software diseñado y abrir una sesión "absolute quantification";
- tomando como referencia la documentación del equipo, programar el "detector" para la sonda para *L. pneumophila* con el "reporter" = "FAM" y el "quencher" = "none" (NFQ es un quencher no fluorescente);
- tomando como referencia la documentación del equipo, programar el "detector" para la sonda para la beta globina con el "reporter" = "VIC" y el "quencher" = "none" (NFQ es un quencher no fluorescente);
- tomando como referencia la documentación del equipo, para cada pocillo en uso de la microplaca, programar los "detector" (tipo de fluorescencia a medir), el "passive reference" = "ROX" (normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, control negativo de amplificación, control positivo de amplificación). Completar el Plan de trabajo adjunto al final de este manual de instrucciones de uso transcribiendo estas informaciones o bien imprimir la organización de la microplaca. El Plan de trabajo deberá seguirse con atención durante la transferencia de la mezcla de reacción y de las muestras a los pocillos.

Se ilustra a continuación, a modo de ejemplo, cómo puede organizarse el análisis de 14 muestras.



Legenda: M1 - M14: Muestras a analizar; CN: Control negativo de amplificación; CP: Control positivo de amplificación.

- tomando como referencia la documentación del equipo, programar en el thermal cycler los parámetros del ciclo térmico y un volumen de reacción de 25 µL. Para equipos Applied Biosystems ABI PRISM™ de la serie 7000 elegir la opción "9600 emulation".

Ciclo térmico de amplificación		
Fase	Temperaturas	Tiempos
Descontaminación	50C°	2 min.
Desnaturalización inicial	95C°	10 min.
45 ciclos	95C°	15 sec.
	60C°	1 min.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

Preparación de la amplificación
(A realizarse en el área de extracción / preparación de la reacción de amplificación)

Antes de iniciar la sesión es necesario:

- extraer y descongelar las probetas con las muestras a analizar. Centrifugar las probetas para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer y descongelar las probetas de AmpliMIX necesarias para la sesión teniendo presente que el contenido de cada una es suficiente para preparar 24 reacciones. Centrifugar las probetas durante 5 segundos para obtener el contenido en el fondo y mantenerlas en hielo;
- extraer y descongelar un número de probetas de AmpliPROBE igual al de las probetas de AmpliMIX. Centrifugar las probetas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer un número de probetas de AmpliMASTER igual al de las probetas de AmpliMIX. Escribir con tinta indeleble "LEGIO. pn." y la fecha en la etiqueta de las probetas. Centrifugar las probetas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer y descongelar la probeta de Positiva Control. Centrifugar la probeta durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerla en hielo;
- si fuera necesario, cortar la Microplaca de amplificación para separar la parte que será utilizada en la sesión, prestando atención de manejarla con guantes sin polvo y de no dañar los pocillos.

1. Transferir 100 µL de AmpliMIX en la probeta de AmpliMASTER. Mezclar bien pipeteando tres veces el volumen de 100 µL en la mix.
 2. Transferir 100 µL de AmpliPROBE en la probeta de AmpliMASTER. Mezclar bien pipeteando tres veces el volumen de 100 µL en la mix.
 3. Mezclar durante 5 segundos con el vortex a baja velocidad, evitando producir espumas.
 4. Centrifugar las probetas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido.
 5. Transferir, depositándolos cuidadosamente en el fondo, 20 µL de la mezcla de reacción así obtenida en los pocillos de la Microplaca de amplificación como fue establecido previamente en el Plan de trabajo.
- Nota: Si no se utiliza toda la mezcla de reacción, conservar el volumen restante en lugar oscuro a -20C° por un máximo de un mes en la probeta "LEGIO. pn.". Congelar y descongelar la mezcla de reacción SÓLO UNA VEZ.
6. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, 5 µL de ADN extraído de la primera muestra en el correspondiente pocillo de la Microplaca de amplificación como fue establecido previamente en el Plan de trabajo, proceder de igual manera con los demás ADN extraídos.
 7. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, 5 µL de Agua bidestilada estéril (no provista en el producto) en el pocillo de la Microplaca de amplificación de control negativo de amplificación como fue establecido previamente en el Plan de trabajo.
 8. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, 5 µL de Positiva Control en el pocillo correspondiente de la Microplaca de amplificación como fue establecido previamente en el Plan de trabajo.
 9. Sellar cuidadosamente la Microplaca de amplificación con la Lámina adhesiva de amplificación.
 10. Transferir la Microplaca de amplificación en el thermal cycler para real time ubicado en el área de amplificación / detección de los productos de amplificación e iniciar el ciclo térmico de amplificación.

Luz Alejandra Diez
Apodolera
BioSystems S.A.

6276

Dra SILVIA ZANELA
DIRECTORA TECNICA
MN 14/421
ABI PRISM™
BIO SYSTEMS S.A.

Lic. Alejandra Díez
Aboderado
BIOSYSTEMS S.A.

6 2 7 6



LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

Análisis cualitativo de los resultados

Los valores registrados de la fluorescencia emitida por la sonda específica para *L. pneumophila* (fluorescencia FAM) y por la sonda específica para la beta globina (fluorescencia VIC) en las reacciones de amplificación deben ser analizados con el software del equipo.

Antes de realizar el análisis es necesario:
- tomando como referencia la documentación del equipo, programar manualmente el intervalo de cálculo del **Nivel de fluorescencia de fondo (Baseline)** desde el ciclo 6 al ciclo 15*;

*Nota: En el caso de una muestra positiva de alto título de *L. pneumophila*, la fluorescencia FAM de la sonda específica para *L. pneumophila* puede comenzar a crecer antes del 15º ciclo. En este caso el intervalo de cálculo de la "baseline" debe ser adaptado desde el ciclo 6 al ciclo en el cual la fluorescencia FAM comienza a crecer.

- tomando como referencia la documentación del equipo, programar manualmente el Umbral (Threshold) para la fluorescencia FAM a 0,2;
- tomando como referencia la documentación del equipo, programar manualmente el Umbral (Threshold) para la fluorescencia VIC a 0,1.

Los valores de fluorescencia emitidos por la sonda específica para *L. pneumophila* en la reacción de amplificación del **Positive Control** y el valor **Umbral** de fluorescencia son utilizados para convalidar la amplificación y la detección como se describe en la tabla siguiente:

Ciclo umbral del Positiva Control <i>L. pneumophila</i> (FAM)	Resultado de la prueba	Amplificación / Detección
Determinado	POSITIVO	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación del **Positive Control** es **No determinado (Undetermined)**, no ha sido detectada la presencia de ADN blanco. Se han verificado problemas en la fase de amplificación o en la de detección (volúmenes de mezcla de reacciones incorrectos, degradación de la sonda, degradación del control positivo, dispensación incorrecta del control positivo, programación incorrecta de la posición del control positivo, programación incorrecta del ciclo térmico) que pueden provocar resultados incorrectos. La sesión no es válida y se debe repetir a partir de la fase de amplificación.

Los valores de fluorescencia emitidos por la sonda específica para *L. pneumophila* en la reacción de amplificación del **Control negativo** y el valor **Umbral** de fluorescencia se utilizan para convalidar la amplificación y la detección como se describe en la siguiente tabla:

Ciclo umbral del Control negativo <i>L. pneumophila</i> (FAM)	Resultado de la prueba	Amplificación / Detección
No determinado	NEGATIVO	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación del **Control negativo** es distinto de **No determinado (Undetermined)**, ha sido detectada la presencia de ADN blanco. Se han verificado problemas en la fase de amplificación (contaminación) que pueden causar resultados incorrectos y falsos positivos. La sesión no es válida y se debe repetir a partir de la fase de amplificación.

Dra. SALVINAZANELA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

Los valores de fluorescencia emitidos por las sondas en las reacciones de amplificación de cada muestra y el valor **Umbral** de fluorescencia se utilizan para detectar la presencia de ADN blanco y para convalidar la amplificación y la detección a través de la determinación del **Ciclo umbral (Ct, el ciclo en el cual se alcanzó el valor Umbral de fluorescencia)**.

Este producto tiene capacidad para detectar una cantidad mínima de aproximadamente 10 copias de ADN de *L. pneumophila* por reacción de amplificación, correspondientes a aproximadamente 10 genomas Equivalentes por reacción (límite de detección del producto, ver apartado sobre las Características de las prestaciones en la página 11).

Cuando este producto se utiliza para la identificación de *L. pneumophila*, los resultados correspondientes a cada una de las **muestras** se utilizan como se describe en la siguiente tabla:

Ciclo umbral de la muestra		Idoneidad de la muestra	Resultado de la prueba	ADN de <i>L. pneumophila</i>
<i>L. pneumophila</i> (FAM)	beta globina (VIC)			
No determinado	Ct > 35 o No determinado	no idóneo	no válido	-
	Ct ≤ 35	idóneo	válido, negativo	NO DETECTADO
Determinado	Ct > 35 o No determinado	idóneo*	válido, positivo	PRESENTE
	Ct ≤ 35	idóneo	válido, positivo	PRESENTE

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es **No determinado** para el ADN de *L. pneumophila* y **Ct > 35** o **No determinado** para el ADN del gen humano de la beta globina, no ha sido posible detectar de manera eficiente el ADN del gen humano de la beta globina. En este caso, se han verificado problemas durante la fase de amplificación (amplificación no eficiente o nula) o durante la fase de extracción (pérdida de ADN, presencia de inhibidores, ADN de la muestra degradada o muestra de partida con un número de células insuficiente) que pueden provocar resultados incorrectos y falsos negativos. La muestra no es apta, la prueba no es válida y debe repetirse a partir de la extracción de una nueva muestra.

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es **No determinado** para el ADN de *L. pneumophila* y **Ct ≤ 35** para el ADN del gen humano de la beta globina, el ADN de *L. pneumophila* no ha sido detectado en el ADN extraído de la muestra, pero no se puede excluir que esté presente con un título inferior al límite de detección del producto (ver apartado sobre las Características de las prestaciones en la página 11). En este caso el resultado sería un falso negativo.

Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados considerando todos los datos clínicos y otros exámenes de laboratorio correspondientes al paciente.

*Nota: Cuando en la reacción de amplificación correspondiente a una muestra ha sido detectada la presencia de ADN de *L. pneumophila*, la amplificación del gen humano de la beta globina puede dar como resultado un **Ct > 35** o **No determinado**. En efecto, la reacción de amplificación de baja eficiencia del gen humano de la beta globina puede ser anulada por competición de la reacción de amplificación de alta eficiencia de *L. pneumophila*. En este caso, la muestra es idónea y el resultado positivo de la prueba es válido.



LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

Cálculo de los límites de detección

El límite de detección, cuando se utiliza un método particular de extracción y referido a una unidad de medida específica, puede calcularse a partir del límite de detección del producto según esta fórmula:

$$\text{Límite de detección (gEq / extracción)} = \frac{V_e \times 10 \text{ gEq}}{V_a \times E_e}$$

Ee es la eficiencia de la extracción, por ejemplo con el producto «EXTRAcell» el parámetro **Ee** es igual a 1,0 (eficiencia equivalentes a aproximadamente 100%)

Ve es el volumen total del producto de extracción, por ejemplo con el producto «EXTRAcell» el parámetro **Ve** es igual a 100 µL.

Va es el volumen del producto de extracción usado en la reacción de amplificación: con este producto el parámetro **Va** es igual a 5 µL.

Cuando se utilizan los kits de extracción de ELITechGroup S.p.A. el límite es:

Kit de extracción	Fórmula simplificada
«EXTRAcell»	Límite de detección = 200 gEq / extracción

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar con este producto sólo el ADN extraído de las siguientes muestras humanas: esputo, lavados broncoalveolares (BAL), aspirados traqueobronquiales (BA).

No utilizar con este producto ADN extraído contaminado con mucoproteínas y hemoglobina: mucoproteínas y hemoglobina inhiben la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y pueden causar resultados no válidos.

No son disponibles datos referidos a eventuales fenómenos de inhibición por parte de fármacos antibióticos, antivirales, quimioterápicos o inmunosupresores.

Los resultados obtenidos con este producto dependen de la correcta recolección, transporte, conservación y preparación de las muestras; para evitar resultados erróneos es necesario tener una particular atención a estas fases y seguir atentamente las instrucciones provistas con los productos para la extracción de los ácidos nucleicos.

La metodología de amplificación real time de los ácidos nucleicos utilizada en este producto, debido a su alta sensibilidad analítica, está sujeta a contaminación por parte de muestras clínicas positivas para *L. pneumophila*, de los controles positivos y de los mismos productos de la reacción de amplificación. Las contaminaciones llevan a resultados falsos positivos. Las modalidades de realización del producto son capaces de reducir las contaminaciones; sin embargo, estos fenómenos pueden evitarse sólo con una buena práctica de las técnicas de laboratorio y siguiendo atentamente las instrucciones provistas en este manual.

Este producto requiere personal instruido para la manipulación de muestras biológicas capaces de transmitir infecciones y de preparados químicos clasificados como peligrosos, para evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario u otras personas.

Este producto requiere indumentaria y áreas de trabajo adecuadas para la manipulación de muestras biológicas capaces de transmitir infecciones y de preparados químicos clasificados como peligrosos, para evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario u otras personas.

Este producto requiere personal instruido para los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos para evitar resultados incorrectos.

Este producto requiere áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de los productos de amplificación para evitar resultados falsos positivos.

Este producto requiere el uso de indumentaria de trabajo e instrumentos destinados a la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / revelación de los productos de amplificación para evitar resultados falsos positivos.

Un resultado negativo obtenido con este producto indica que el ADN de *L. pneumophila* no ha sido detectado en el ADN extraído de la muestra, pero no se puede excluir que el ADN de *L. pneumophila* esté presente con un título inferior al límite de detección del producto (ver apartado sobre las Características de las prestaciones en la página 11); en este caso el resultado sería un falso negativo.

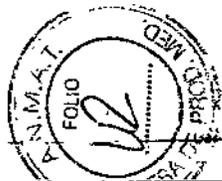
Como para cualquier otro dispositivo de diagnóstico, los resultados obtenidos con este producto deben ser interpretados considerando todos los datos clínicos y otros exámenes de laboratorio correspondientes al paciente.

Como para cualquier otro dispositivo de diagnóstico, existe un riesgo latente de obtener resultados no válidos, falsos positivos y falsos negativos con este producto. Dicho riesgo latente no puede ser eliminado ni reducido totalmente. Este riesgo latente en situaciones particulares, como los diagnósticos de urgencia, puede contribuir a decisiones incorrectas con consecuencias potencialmente graves para el paciente.

Alcides Diez
Lapoderedo
Biosystems S.A.

6276

Dra SILVINA ZANELA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S A



Lic. Alejandra Diez
Asesorado
Biosystems S.A.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES

Sensibilidad analítica: límite de detección

La sensibilidad analítica de esta prueba permite identificar la presencia de aproximadamente 10 moléculas de ADN blanco en las 5 µL de ADN extraído agregadas a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de la prueba, como límite de detección, ha sido testada utilizando un ADN plasmídico que contiene el producto de amplificación cuya concentración inicial ha sido medida espectrofotométricamente. El ADN plasmídico ha sido diluido con un título de 10 copias / 5 µL en ADN genómico humano con un título de 500 ng / 5 µL. Dicha muestra fue utilizada en 50 repeticiones para realizar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. (ver apartado sobre los productos accesorios).

Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
10 copias ADN plasmídico + 500 ng de ADN genómico humano	50	50	0

Sensibilidad analítica: reproducibilidad con panel para proficiency test

La sensibilidad analítica de la prueba, como reproducibilidad de los resultados en comparación con los resultados obtenidos con otras metodologías y en distintos laboratorios, ha sido verificada con dos paneles para proficiency test.

La primera prueba ha sido efectuada utilizando como material de referencia calibrado un panel de diluciones de *L. pneumophila* serogrupo 1 en PBS o en BAL dentro de la concentración límite (QCMD 2004 Legionella pneumophila pilot proficiency panel, Qnostics Ltd, Reino Unido). Cada muestra del panel fue utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Pruebas con QCMD 2004 <i>L. pneumophila</i> pilot proficiency panel			
Muestra	Valor declarado cfu / ml	Resultado esperado	Resultado obtenido
LP04-01	n/a	negativo	(no logrado)
LP04-02	n/a	negativo	negativo
LP04-03	1,8x10 ³	positivo	positivo
LP04-04	1,8x10 ⁵	positivo	positivo
LP04-05	1,8x10 ¹	positivo	positivo
LP04-06	n/a	negativo	negativo
LP04-07	1,8x10 ¹	positivo	negativo
LP04-08	1,8x10 ³	positivo	positivo
LP04-09	n/a	negativo	negativo
LP04-10	1,8x10 ⁵	positivo	positivo

La muestra LP05B-07 ha dado un resultado negativo discordante confirmado cuando la amplificación fue repetida. La discrepancia entre el resultado obtenido con los productos ELITechGroup S.p.A. y el esperado puede explicarse considerando que la cantidad de muestra era de 0,5 ml (equivalente a 9 cfu) y que sólo 1/20 del producto de extracción ha sido utilizado en la reacción de amplificación (equivalente a 0,45 cfu). Por lo tanto, la muestra estaba por debajo del límite de detección de la prueba, en un ámbito en el cual se tiene una baja probabilidad de obtener resultados positivos. Además, esta muestra ha sido identificada de manera incorrecta en el 84,2% de los casos durante el QCMD 2004 Legionella pneumophila pilot proficiency programme (datos de QCMD, Reino Unido).

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

La segunda prueba ha sido efectuada utilizando como material de referencia calibrado un panel de diluciones de *L. pneumophila* serogrupo 1 (sg1, ATCC 33152) y serogrupo 6 (sg6, NCTC 11287) en solución fisiológica dentro de la concentración límite (QCMD 2005 Legionella pneumophila pilot proficiency panel, Qnostics Ltd, Reino Unido). El panel contenía también diluciones de *L. micdadei* (NCTC 11371). Cada muestra del panel fue utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Pruebas con QCMD 2005 <i>L. pneumophila</i> pilot proficiency panel			
Muestra	Valor declarado cfu / ml	Resultado esperado	Resultado obtenido
LP05B-01	L. p. negativo	negativo	negativo
LP05B-02	L. m. 1,8x10 ³	negativo	negativo
LP05B-03	L. p. sg6 1,8x10 ³	positivo	positivo
LP05B-04	L. p. sg1 1,8x10 ⁴	positivo	negativo / positivo
LP05B-05	L. p. sg6 1,8x10 ⁵	positivo	positivo
LP05B-06	L. m. 1,8x10 ⁵	negativo	negativo
LP05B-07	L. p. sg1 1,8x10 ³	positivo	positivo
LP05B-08	L. p. sg1 1,8x10 ¹	positivo	negativo
LP05B-09	L. p. sg6 1,8x10 ¹	positivo	negativo / positivo
LP05B-10	L. p. sg1 1,8x10 ⁵	positivo	positivo
LP05B-11	L. p. negativo	negativo	negativo
LP05B-12	L. p. sg1 1,8x10 ¹	positivo	negativo

La muestra LP05B-04 ha dado un resultado negativo discordante, pero una vez repetido se manifestó positivo.

La muestra LP05B-09 ha dado un resultado negativo discordante, pero una vez repetido se manifestó positivo.

Las muestras LP05B-08 y LP05B-12 han dado un resultado negativo discordante, confirmado cuando la amplificación fue repetida. La discrepancia entre los resultados obtenidos con los productos ELITechGroup S.p.A. y los esperados puede explicarse considerando que la cantidad de muestra era de 0,5 ml (equivalente a 9 cfu) y que sólo 1/20 del producto de extracción ha sido utilizado en la reacción de amplificación (equivalente a 0,45 cfu). Por lo tanto, la muestra estaba por debajo del límite de detección de la prueba, en un ámbito en el cual se tiene una baja probabilidad de obtener resultados positivos. Además, estas muestras han sido identificadas de manera incorrecta en el 87,8% de los casos durante el QCMD 2005 Legionella pneumophila pilot study (datos de QCMD, Reino Unido).

Sensibilidad diagnóstica: eficiencia de detección en distintos genotipos / subtipos

La sensibilidad de diagnóstico de la prueba, como eficiencia de detección en distintos genotipos / subtipos, ha sido evaluada por comparación de secuencias con bases de datos de secuencias nucleotídicas.

El análisis de alineamiento de las regiones elegidas para la hibridación de los oligonucleótidos primers del AmpliMIX y de la sonda fluorescente AmpliPROBE con las secuencias disponibles en la base de datos del gen mip de *L. pneumophila* ha demostrado su conservación y la ausencia de mutaciones significativas.

La sensibilidad de diagnóstico de la prueba, como eficiencia de detección en distintos genotipos / subtipos, ha sido evaluada realizando el análisis de muestras positivas para *L. pneumophila* sg1 y para *L. pneumophila* sg6.

La sensibilidad diagnóstica de la prueba se evaluó utilizando como material de referencia muestras certificadas positivas para el ADN de *L. pneumophila* sg1, ATCC 33152, y de *L. pneumophila* sg6, NCTC 11287, (QCMD 2005 Legionella pneumophila pilot proficiency panel, Qnostics Ltd, Reino Unido). Cada muestra fue utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla correspondiente al apartado "Sensibilidad analítica: reproducibilidad con panel para proficiency test".

6276

Dra. SILVINA ZANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
MNT 141421
BIOSYSTEMS S.A.



LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

Sensibilidad diagnóstica: muestras positivas

La sensibilidad de diagnóstico de la prueba, como confirmación de muestras clínicas positivas, ha sido evaluada realizando el análisis de algunas muestras clínicas positivas para el ADN de *L. pneumophila*.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia el ADN extraído de 5 muestras de expectoración, 3 muestras de BA y 2 muestras de BAL, positivas para el ADN de *L. pneumophila* (testadas con un método de amplificación nested o con un método de amplificación real time). Cada muestra fue utilizada para realizar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla

Muestras	N	positivas	negativas
Extracciones positivas para el ADN de <i>L. pneumophila</i>	9	8	1

Una muestra de BAL ha dado un resultado negativo discordante con los productos ELITechGroup S.p.A. Esta muestra ha sido testada nuevamente con el método de amplificación nested y ha dado un resultado negativo. Las discrepancias pueden explicarse por un título del ADN de *L. pneumophila* inferior al límite de detección de las dos pruebas, que produciría resultados positivos de manera casual.

Especificidad analítica: marcadores potencialmente interferentes

La especificidad analítica de la prueba, como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, ha sido evaluada confrontando las secuencias con bases de datos nucleotídicas.

El análisis de alineamiento de las regiones elegidas para la hibridación de los oligonucleótidos primers del AmpliMIX y de las sondas fluorescentes AmpliPROBE con las secuencias disponibles en la base de datos de organismos distintos de *L. pneumophila*, entre los cuales se encuentran las de los genomas completos de *Chlamydomydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*, ha demostrado su especificidad y la ausencia de homología significativas.

La especificidad analítica de la prueba, como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, ha sido verificada realizando el análisis de muestras certificadas positivas para *Legionella micdadei*, *Chlamydomydia pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae*.

La especificidad analítica de la prueba fue evaluada utilizando como material de referencia muestras certificadas positivas de alto título para el ADN de *Chlamydomydia pneumoniae*, cepa CM-1, ATCC VR-1360 (Vircell SL, España), para el DNA de *Mycoplasma pneumoniae*, cepa FH, ATCC 15531, (Vircell S.L., España) y para el ADN de *Legionella micdadei*, cepa NCTC 11371 (Qnostisc Ltd, Reino Unido). Estos microorganismos provocan infecciones respiratorias y se encuentran con frecuencia en las mismas muestras clínicas. Cada muestra fue utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	1	0	1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1	0	1
<i>Legionella micdadei</i>	1	0	1

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

Especificidad diagnóstica: muestras negativas

La especificidad diagnóstica de la prueba, como confirmación de muestras clínicas negativas, ha sido verificada efectuando el análisis de algunas muestras celulares negativas para el ADN de *L. pneumophila*, resultando equivalente al 98,2%.

La especificidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia muestras clínicas de BAL y BA negativas para el ADN de *L. pneumophila* (testadas con un método de amplificación nested). Cada muestra del panel fue utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Células negativas para el ADN de <i>L. pneumophila</i>	58	1	56

Una muestra dio con los productos ELITechGroup S.p.A. un resultado positivo discordante. Esta muestra ha sido testada de nuevo y ha dado nuevamente un resultado positivo. La muestra ha sido evaluada a nivel cuantitativo y demostraron un título inferior a 10 gEq / reacción, que está por debajo del límite de detección del producto y del sistema de amplificación nested utilizado para testar las muestras. Con títulos bajos las muestras pueden producir resultados positivos en forma casual.

Una muestra dio un resultado no válido.

Robustez: efecto de la matriz

La robustez de la prueba, como efecto de la matriz que conduce a resultados negativos falsos, fue verificada realizando el análisis de un panel de extracciones de muestras clínicas con resultados positivos para el ADN de *L. pneumophila* de título cercano al límite de detección.

El efecto de la matriz fue evaluado utilizando como material de referencia a muestras de ADN extraído de BAL y BA negativas para el ADN de *L. pneumophila*, testados con un método de amplificación nested y positivizados con el ADN plasmídico diluido con un título de 30 copias / 5 µL (3 veces el límite de detección). Estas muestras fueron utilizadas para realizar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Extracciones positivizadas para el ADN de <i>L. pneumophila</i>	50	50	0

Nota: Los datos y los resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de las prestaciones del producto están señaladas en la Sección 7 del Fascículo Técnico del Producto "LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX" y "LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE", FTP RTS096.

BIBLIOGRAFÍA

M. Kolde et al. (1995) *Clin Inf Dis* 21. 199 - 201

L. J. Melichamp Diez
Biosystems S.A.

62796

Dra. SILVINA ZANELA
DIRECTORA TÉCNICA
BIOSYSTEMS S.A.



Lic. Alejandro Diez
Abogado
Biosystems S.A.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

REF RTS096-M

6276

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

ADN blanco no detectado en la reacción de Positive Control

Causas posibles	Soluciones
Error en la preparación de la mezcla de reacción.	Controlar los volúmenes de reactivos dispensados durante la preparación de la mezcla de reacción.
Error en la dispensación de la microplaca.	Dispensar cuidadosamente las reacciones en la microplaca siguiendo el plan de trabajo. Controlar los volúmenes de mezcla de reacción dispensados. Controlar el volumen de control positivo dispensado.
Degradación de la sonda.	Utilizar una nueva alícuota de sonda.
Degradación del control positivo	Utilizar una nueva alícuota de control positivo.
Error en la programación del equipo.	Controlar la posición de las reacciones del control positivo programada en el equipo. Controlar el ciclo térmico programado en el equipo.

ADN blanco detectado en la reacción de Control negativo

Causas posibles	Soluciones
Error en la dispensación de la microplaca.	Evitar esparcir el contenido de las probetas de las muestras Cambiar siempre el tip entre una muestra y la otra. Dispensar cuidadosamente muestras, control negativo y control positivo en la microplaca siguiendo el plan de trabajo.
Error durante la programación del equipo.	Controlar la posición de muestras, control negativo y control positivo programada en el equipo.
Microplaca mal cerrada.	Cerrar con cuidado la microplaca.
Contaminación del agua bidestilada estéril.	Utilizar una nueva alícuota de agua estéril.
Contaminación del mix de amplificación.	Utilizar una nueva alícuota del mix de amplificación.
Contaminación del área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.	Limpiar superficies y instrumentos con detergentes acuosos, lavar batas, sustituir probetas y tips en uso.

Presencia de fluorescencia de fondo elevada en las reacciones

Causas posibles	Soluciones
Error en la programación de la "baseline".	Programar el intervalo de cálculo de "baseline" en una zona de ciclos en la cual la fluorescencia de fondo ya se encuentre estabilizada (controlar los registros "component") y que la fluorescencia de la señal no haya comenzado a crecer todavía, por ejemplo del ciclo 9 al ciclo 15.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX
búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*

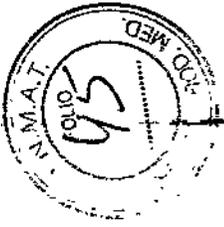
REF RTS096-M

SIGNIFICADO DE LOS SIMBOLOS

- Número de catálogo.
- Límite superior de temperatura.
- Código de lote.
- Utilizar antes del último día del mes.
- Dispositivo médico diagnóstico *in vitro*.
- Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos *in vitro*.
- Contenido suficiente para "N" test.
- Atención, consultar las instrucciones de uso.
- Fabricante.

Dra. SILVINA ZANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
M.N. 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

La adquisición de este producto permite al comprador su utilización para la amplificación y detección de secuencias de ácidos nucleicos para proveer servicios de diagnóstico humano *in vitro*. Este derecho es otorgado sólo al producto provisto se utiliza junto con los productos con licencia "Positive Control" y "Q - PCR Standard" de ELITechGroup S.p.A. Por medio de la adquisición no se otorga ningún derecho general u otra licencia de tipo diferente de este derecho específico de uso.



HOJA DE TRABAJO

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Alfonso Diez
Apoderado
Biosystems S.A.

6276

1

Dra. SILVINA ZANELA
DIRECTORA TÉCNICA
MIN 14421
BIOSYSTEMS S.A.

9 4 2 9

	Av. Dorrego 673 1414 - Buenos Aires Tel.: 54-11-4854-7775 Fax: 54-11-4857-0884 e-mail: info@biosystems.com.ar	 
---	---	--

PROYECTOS DE ROTULO

➤ **PROYECTO DE ROTULO EXTERNO**

1 - Nombre del producto:

- **LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert kit (RTS096)**
- **LEGIONELLA pn. - Positive Control (CTR096)**

2 - Nombre del establecimiento elaborador:

ELITechGroup S.p.A, C.so Svizzera, 185, 10149 Torino- Italia

2a - Nombre del establecimiento importador:

**Biosystems S.A.
Av. Dorrego 673
CKB1414- Buenos Aires
Argentina**

3 - Leyenda "Autorizado por el MS y AS": **AUTORIZADO POR ANMAT Certificado N°:**

4 - Número de lote o partida:

5 - Fecha de Vencimiento:

6 - Constitución: - **LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert kit, compuesto por:**
LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX RTS096M
LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE RTS096P
Q - PCR Alert AmpliMASTER RTS000
- **LEGIONELLA pn. - Positive Control**

7 - Unidades métricas:

8 - Leyenda "Uso in vitro"

9 - Finalidad o uso al que está destinado: "Ver Instrucciones de Uso"

10-Precauciones: "Ver Instrucciones de Uso"

11- Condiciones de conservación, almacenamiento y transporte:


Lic. Alejandro Diez
Apoderado
BioSystems S.A.




Dra. SILVINA ZANELA
DIRECTORA TECNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert kit



LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX

> ROTULO EXTERNO

REF RTS096-M

**LEGIONELLA pn.
Q - PCR Alert AmpliMIX**

LOT C0813CE 2015/02 -20°C

CE **IVD** 96

CONT	LEGIO. pn. AmpliMIX	4 x 110 µL	S 23-25
-------------	---------------------	------------	---------

ELITechGroup S.p.A.
C.so Salaria, 855 - 00148 Roma - ITALY
Tel. +39 061 876111 - Fax +39 061 876211 RTS096-M-ELI, Rev 03

Importado por:
BioSystems S.A
Domicilio: **Av. Dorrego 673**
Tel. **54-011-4854-7775**
Directora Técnica: **Farm. Silvina Zanela**
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
AUTORIZADO POR ANMAT Certificado N°:

> ROTULOS INTERNOS

Tubo 0.5ml

REF RTS096-M	REF RTS096-M
LEGIO pn. AmpliMIX 4 x 110 µL S 23-25	LEGIO. pn. AmpliMIX
LOT P0813BN 2015/02 -20°C	LOT P0813BN 2015/02 -20°C
CE IVD	CE IVD
<small>ELITechGroup S.p.A. C.so Salaria, 855 - 00148 Roma - ITALY Tel. +39 061 876111 - Fax +39 061 876211</small>	<small>ELITechGroup S.p.A. C.so Salaria, 855 - 00148 Roma - ITALY Tel. +39 061 876111 - Fax +39 061 876211</small>

Lic. Alejandro Diez
ApoDERADO
BioSystems S.A.

Dra. SILVINA ZANELA
DIRECTORA TECNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE

9 4 2 9 21
A.N.M. S.
FOLIO
S.A. DE PROC. MED.

> ROTULO EXTERNO



REF RTS096-P

LEGIONELLA pn.
Q - PCR Alert AmpliPROBE

LOT C0813CF 2015/02 -20°C

CE **IVD**   96

CONT	LEGIO. pn. AmpliPROBE	4 x 110 µL	S 23-25
-------------	-----------------------	------------	---------

ELITechGroup S.p.A.
C.so Salaria, 195 - 00198 Torino - ITALY
Tel. +39 011 978191 - Fax +39 011 9567511 RTS096-P-E1 1, Rev 03

Importado por:
BioSystems S.A
Domicilio: **Av. Dorrego 673**
Tel. **54-011-4854-7775**
Directora Técnica: **Farm. Silvina Zanela**
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
AUTORIZADO POR ANMAT Certificado N°:

> ROTULOS INTERNOS

Tubo 0.5 ml



REF RTS096-P

LEGIO. pn. AmpliPROBE	4 x 110 µL	S 23-25
-----------------------	------------	---------

LOT P0813B0 **CE** **IVD** -20°C

2015/02

ELITechGroup S.p.A.
C.so Salaria, 195 - 00198 Torino - ITALY
Tel. +39 011 978191 - Fax +39 011 9567511 RTS096-P-E1 1, Rev 03



REF RTS096-P

LEGIO. pn. AmpliPROBE

LOT P0813B0 **CE** **IVD**

2015/02 S 23-25

ELITechGroup S.p.A.
C.so Salaria, 195 - 00198 Torino - ITALY
Tel. +39 011 978191 - Fax +39 011 9567511 RTS096-P-E1 1, Rev 03


Lic. Albino Diez
Aprobado
BioSystems S.A.


Dra. SILVINA ZANELA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

Q - PCR Alert AmpliMASTER



> ROTULO EXTERNO

REF RTS000

Q - PCR Alert AmpliMASTER

LOT C0713EP 2015/03 +8°C

CE **IVD** 96 +2°C

CONT	AmpliMASTER	-	4 x 340 µL	S 23-25
	MP000	Amplification microplato	3	-
	AS000	Amplification Sealing Sheet	3	-

ELiTechGroup S.p.A.
 C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY
 Tel. +39 011 576191 - Fax +39 011 0367611

RTS000-EL1, Rev.04

Importado por:
BioSystems S.A
 Domicilio: Av. Dorrego 673
 Tel. 54-011-4854-7775
 Directora Técnica: Farm. Silvina Zanela
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
AUTORIZADO POR ANMAT Certificado N°:

Lic. Alejandro Diez
 Apoderado
 BioSystems S.A.

Dra. SILVINA ZANELA
 DIRECTORA TECNICA
 MN 14.421
 BIOSYSTEMS S.A.

9429



➤ ROTULOS INTERNOS

Alert
Q-PCR

REF RTS000

AmplIMASTER	4 x 340 µL	8 23-25
--------------------	------------	---------

LOT D0513AD
2016/03

CE IVD

+2°C

ELTechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 195 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 815211 - Fax +39 011 815211

Tubo 2 ml

Alert
Q-PCR

REF RTS000

Q - AmplIMASTER

LOT D0713AL	CE	IVD
-------------	----	-----

2015/03

ELTechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 195 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 815211 - Fax +39 011 815211

Alert
Q-PCR

REF AS000

Amplification Sealing Sheet	3	-
------------------------------------	---	---

LOT 201207146

CE IVD

ELTechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 195 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 815211 - Fax +39 011 815211

Alert
Q-PCR

REF MP000

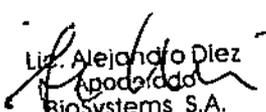
Amplification microplate	3	-
---------------------------------	---	---

LOT M4N20625

CE IVD

ELTechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 195 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 815211 - Fax +39 011 815211

Lic. Alejandro Diez
Agodardo
Biosystems S.A.




[Handwritten Signature]
Dra. SILVINA ZANELA
DIRECTORA TECNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

9429



LEGIONELLA pn. - Positive Control

> ROTULO EXTERNO

**REAL-TIME
Alert
Q-PCR**

REF CTR096
**LEGIONELLA pn. -
Positive Control**

LOT C0713AJ 2015/02 -20°C

CE **IVD** 25

CONT	LEGIO. pn. - Positive Control	2 x 85 µL	S 23-25
-------------	-------------------------------	-----------	---------

ElitTechGroup S.p.A.
C.so Dante, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 970301 - Fax +39 011 9707811 CTR000-El.1, Rev.03

Importado por:
BioSystems S.A
 Domicilio: Av. Dorrego 673
 Tel. 54-011-4854-7775
 Directora Técnica: Farm. Silvina Zanela
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
AUTORIZADO POR ANMAT Certificado N°:

> ROTULOS INTERNOS

**REAL-TIME
Alert
Q-PCR**

REF CTR096

LEGIO. pn. - Positive Control	2 x 85 µL	S 23-25
-------------------------------	-----------	---------

LOT C0713AJ 2015/02 **CE** **IVD** -20°C

ElitTechGroup S.p.A.
C.so Dante, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 970301 - Fax +39 011 9707811 CTR000-El.1, Rev.03

Tubo 0.5 ml

**REAL-TIME
Alert
Q-PCR**

REF CTR096

LEGIO. pn. - Positive Control

LOT C0713AJ **CE** **IVD**

2015/02 S 23-25

ElitTechGroup S.p.A.
C.so Dante, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 970301 - Fax +39 011 9707811

Lic. Alejandro Diez
 Apoderado
 BioSystems S.A.

Dra. SILVINA ZANELA
 DIRECTORA TECNICA
 MN 14.421
 BIOSYSTEMS S.A.

9429
37
CULIO
D. MFO



REAL-TIME
Alert
Q-PCR



ELITechGroup
MOLECULAR DIAGNOSTICS

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com

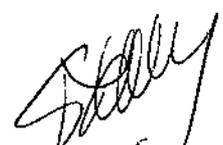
LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert kit
Ref. RTS096

Composto da:
Composed by:
Composé par:
Compuesto por:
Composta por:
Komponiert von:

- | | |
|--|----------------|
| LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliMIX | RTS096M |
| LEGIONELLA pn. Q - PCR Alert AmpliPROBE | RTS096P |
| Q - PCR Alert AmpliMASTER | RTS000 |


Lic. Alejandro Diez
Apoderado
BioSystems S.A.

RTS096_Front


Dra. SILVINA ZANELA
DIRECTORA TECNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

↓
P



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN DE VENTA DE
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-3110-421/15-5

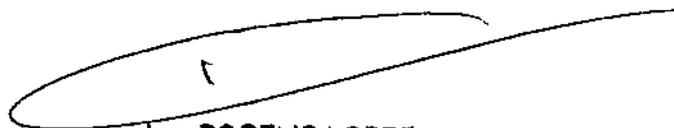
Se autoriza a la firma BIOSYSTEMS S.A. a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado 1) Legionella pn Q- PCR Alert Kit / prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos para la búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) en muestras de ADN extraído de esputo, lavados bronqueoalveolares y aspirados traqueales; y 2) Legionella pn. Positive Control/ control positivo de las pruebas cualitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la búsqueda del ADN de *Legionella pneumophila*. En envases conteniendo: 1) Legionella pn. Q- PCR Alert AmpliMIX: mezcla de oligonucleótidos primers (LEGIO. pn. AmpliMIX: 4 x 110µl), Legionella pn. Q- PCR Alert AmpliPROBE: mezcla de sondas fluorescentes marcadas (LEGIO. pn. AmpliPROBE: 4 x 110µl), Q - PCR Alert AmpliMASTER: mezcla de reactivos optimizados (Q-AmpliMASTER: 4 x 340µl), Microplaca de amplificación (Amplification Sealing Sheet: 3) y lamina adhesiva para amplificación (Amplification microplate: 3), para 96 determinaciones; y 2) solución control (LEGIO. pn. Positive Control: 2 x 65µl), para 25 determinaciones. Vida útil: 1) Legionella pn. Q- PCR Alert AmpliMIX y Legionella pn. Q- PCR Alert AmpliPROBE: DIECIOCHO (18) MESES desde la fecha de elaboración, conservado a -20°C; y Q- PCR Alert AmpliMASTER: DIECIOCHO (18) MESES desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C; 2) DIECIOCHO (18) MESES desde la fecha de elaboración, conservado a -20°C. Se le asigna la categoría: venta a

Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones establecidas en la Ley N° 16.463 y Resolución Ministerial N° 145/98. Lugar de elaboración: ELITechGroup S.p.A. Corso Svizzera 185, Torino 10149 (ITALIA). En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA. Certificado n°

008328

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA

Buenos Aires, **11 NOV 2015**



Ing. **BOGELIO LOPEZ**
Firma y sello
Administrador Nacional
A.N.M.A.T.

