



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
Las Malvinas son argentinas

**Disposición**

**Número:**

**Referencia:** EX-2021-120654643--APN-DGA#ANMAT

---

VISTO el expediente N° EX-2021-120654643--APN-DGA#ANMAT del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIODIAGNOSTICO S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos Médicos para diagnóstico “*in vitro*” denominados **CMV ELITE MGB KIT; CMV ELITE POSITIVE CONTROL y CMV ELITE STANDARD.**

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

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

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

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM de los productos médicos objeto de la solicitud.

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

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) de los productos médicos para diagnóstico *in vitro* denominados **1) CMV ELITE MGB KIT; 2) CMV ELITE POSITIVE CONTROL; y 3) CMV ELITE STANDARD**, con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente, de acuerdo con lo solicitado por la firma BIODIAGNOSTICO S.A.

ARTICULO 2º.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento GEDO N° IF-2021-120668258-APN-DGA#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT **PM-1201-272**”, con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

### **DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS**

**EMPRESA:** BIODIAGNOSTICO S.A.

**NOMBRE COMERCIAL:** 1) **CMV ELITE MGB KIT; 2) CMV ELITE POSITIVE CONTROL; y 3) CMV ELITE STANDARD.**

**INDICACIÓN DE USO:** 1) Ensayo cualitativo y cuantitativo de amplificación de ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del ADN del virus humano Citomegalovirus (CMV) en muestras de ADN recolectado de sangre entera recolectada en EDTA, plasma recolectado en EDTA, líquido cefalorraquídeo, hisopados bucales, orina y líquido amniótico; 2) Control positivo en las pruebas cualitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección del ADN del virus humano Citomegalovirus (CMV) con el producto CMV ELITE MGB® Kit de ELITechGroup S.p.A.; y 3) Control positivo y ADN estándar de cantidad conocida para la detección y cuantificación del ADN del virus humano Citomegalovirus (CMV) con el producto CMV ELITE MGB® Kit de ELITechGroup S.p.A.

**FORMA DE PRESENTACIÓN:** 1) Envases por 100 determinaciones conteniendo: 4 tubos x 540 µL cada uno; 2) Positive Control, 2 Tubos x 160 µL cada uno; y 3) Envases por 8 tubos x 200 uL cada uno (CMV Q - PCR Standard 105 x 200 µL, CMV Q - PCR Standard 104 x 200 µL, CMV Q - PCR Standard 103 x 200 µL y CMV Q - PCR Standard 102x 200 µL).

**PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN:** 1) 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración, conservado a -20°C; 2 y 3): 36 (TREINTA Y SEIS) meses desde la fecha de

elaboración, conservado a -20°C.

**NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE:** ELITechGroup S.p.a - Corso Svizzera 185, 10149 Torino (ITALIA).

EXPEDIENTE N° EX-2021-120654643--APN-DGA#ANMAT

Fd

rl

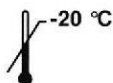
Digitally signed by GARAY Valeria Teresa  
Date: 2022.01.20 12:46:31 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.01.20 12:46:35 -03:00



**CMV ELITE MGB® Kit**  
reactivo para l'amplificación en tiempo real de ADN

REF RTK015PLD



**ÍNDICE**

USO PREVISTO	pág. 1
PRINCIPIO DE LA PRUEBA	pág. 2
PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO	pág. 3
MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 3
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 3
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS	pág. 3
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	pág. 5
<b>ELITE INGENIUS®</b>	
MUESTRAS Y CONTROLES	pág. 6
PROCEDIMIENTO	pág. 9
CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES	pág. 17
<b>OTROS SISTEMAS</b>	
MUESTRAS Y CONTROLES	pág. 27
PROCEDIMIENTO	pág. 30
CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES	pág. 39
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	pág. 53
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	pág. 54
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS	pág. 55
AVISO AL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	pág. 56
	pág. 57

**USO PREVISTO**

El producto «CMV ELITE MGB<sub>2</sub> Kit» es una prueba cualitativa y cuantitativa de amplificación de los ácidos nucleicos para la **detección y cuantificación del ADN del Citomegalovirus humano (CMV)** en muestras de ADN extraído de sangre entera recolectada con EDTA, plasma extraído con EDTA, líquido cefalorraquídeo, orina, hisopados bucales y líquido amniótico.

El producto se utiliza para el diagnóstico y el monitoreo de la infección por CMV, junto con los datos clínicos del paciente y con los resultados de otros exámenes de laboratorio.

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

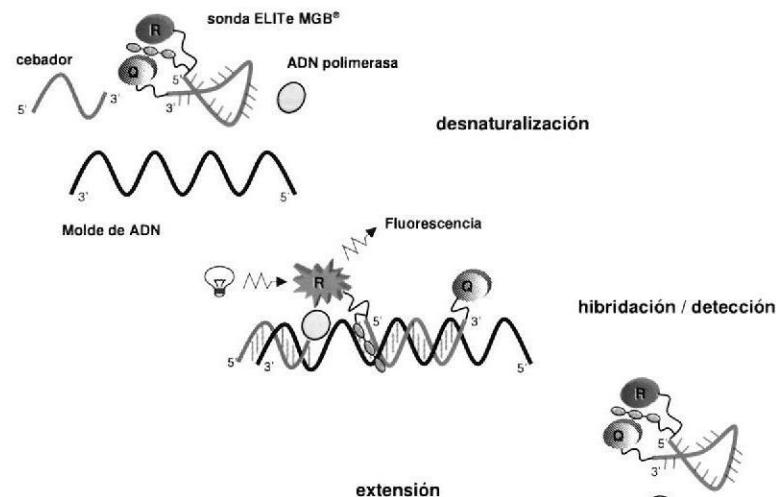
La prueba prevé la realización de una reacción de amplificación real time en microplaca con un termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia.

En cada pocillo se realizan dos reacciones de amplificación: una específica para una región del **exon 4 del gen MIEA de CMV** (major immediate early antigen, HCMVUL123) y una específica para la región del gen humano que codifica la **beta globina** (Control Interno de inhibición) utilizando el DNA extraído de las muestras en examen. La sonda con tecnología ELITE MGB® específica para CMV, marcada con el fluoróforo FAM, se activa cuando hibrida con el producto específico de la reacción de amplificación para CMV. La sonda con tecnología ELITE MGB® específica para el Control Interno, marcada con el fluoróforo AP525 (equivalente a VIC), se activa cuando hibrida con el producto de la reacción de amplificación para el Control Interno. La emisión de la fluorescencia aumenta con el aumento de los productos específicos de la reacción de amplificación y es medida y registrada por el aparato. La elaboración de los datos permite detectar la presencia y el título del ADN de CMV en la muestra de partida.

Cuando finaliza una sesión, se puede analizar la curva de disociación (melting curve) y determinar la temperatura de disociación (melting temperature) para confirmar la presencia del target correcto o identificar la presencia de mutaciones.

El ensayo ha sido validado en los sistemas informados en este manual de instrucciones.

En la siguiente figura se resume el mecanismo de activación y emisión de la fluorescencia de la sonda con tecnología ELITE MGB®. Notar que la sonda no se hidroliza durante el ciclo de amplificación y, por lo tanto podrá, ser utilizada para realizar la curva de disociación.



BIODIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TECNICA  
BIOQUIMICA  
APODERADA



## PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

### CMV ELITE MGB® Kit

detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

### CMV ELITE MGB® Kit

detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

### PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

El producto «**CMV ELITE MGB® Kit**» suministra una **mezcla de reacción completa y lista para usar** "CMV Q - PCR Mix" para la amplificación real time en una solución estabilizadora, **previamente dosificada en cuatro probetas**. Cada probeta contiene **540 µL** de solución, suficiente para **24 tests** en asociación con el sistema **ELITE InGenius®** e **25 tests** en asociación con otros sistemas.

Los oligonucleótidos cebadores y la sonda para CMV (estabilizada por el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo FAM e inactivada por el quencher no fluorescente) son específicos para una **región del exon 4 del gen MIEA de CMV** (major immediate early antigen, HCMVUL123).

Los oligonucleótidos cebadores y la sonda para el Control Interno (estabilizada por el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo AP525, equivalente a VIC, e inactivada por el quencher no fluorescente) son específicos para la **región promotora y 5' UTR del gen humano que codifica la beta Globina**.

La mezcla de reacción provee el sistema tampón, el cloruro de magnesio, los nucleótidos trifosfatos, el fluoróforo AP593 (usado en el lugar del ROX o del Cy5 como referencia pasiva para la normalización de la fluorescencia), la enzima Uracil-N-glicosidasa (UNG) para la inactivación de las contaminaciones por productos de amplificación y la enzima ADN polimerasa de activación térmica (hot start).

El kit permite efectuar **96 determinaciones en asociación con el sistema ELITE InGenius**, estándares y controles incluidos.

El kit permite efectuar **100 determinaciones en asociación con otros sistemas**, estándares y controles incluidos.

### MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de los peligros
CMV Q-PCR Mix	mezcla completa de reacción	4 x 540 µL	-

### MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de nitrilo 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 de grado molecular para biología.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia 7300 Real Time PCR System o 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument calibrado según las indicaciones del fabricante.

### OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

Los reactivos para la extracción de ADN de las muestras a analizar, el control de extracción positivo, el control de amplificación positivo, el ADN estándar en cantidades conocidas y los consumibles **no** están incluidos en este producto

Para la extracción manual del ADN de las muestras a analizar, se aconseja utilizar el producto genérico «**EXTRAblood**» (ELITechGroup S.p.A., código EXTB01), kit para la extracción de ADN a partir de muestras celulares y no celulares.

Para la ejecución automática de la extracción, amplificación e interpretación del ADN de los resultados de las muestras a analizar con el instrumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup SpA, código INT030), se requiere el uso de los siguientes productos genéricos: cartuchos extracción «**ELITE InGenius® SP 200**» (ELITechGroup SpA, código INT032SP200), y consumibles para extracción y amplificación a partir de muestras biológicas «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup SpA, código INT032CS), «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup SpA, código F2102-000), «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup SpA, código INT035PCR) y «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, EE. UU., Código TF-350-LRS).

El instrumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup SpA, código INT030) y los siguientes protocolos específicos de Ensayo (ELITechGroup SpA) son necesarios para la ejecución automática de la extracción de ADN, la amplificación en tiempo real y la interpretación de los resultados de las muestras a analizar:

- para el calibrador «**CMV ELITE STD**»,
- para el control de amplificación positivo «**CMV ELITE PC**»,
- para el control de amplificación negativo «**CMV ELITE NC**»,
- para las muestras analizadas «**CMV ELITE WB 200 100**», «**CMV ELITE PL 200 100**», «**CMV ELITE CSF 200 100**», «**CMV ELITE U 200 100**», «**CMV ELITE BS 200 100**» y «**CMV ELITE AF 200 100**».

Para la extracción automática del ADN de las muestras a analizar, se aconseja utilizar el producto genérico «**ELITE STAR 200 Extraction Kit**» (ELITechGroup S.p.A., código INT011EX), kit de extracción de los ácidos nucleicos de muestras biológicas, con el instrumento «**ELITE STAR**» (ELITechGroup S.p.A., código INT010).

«**ELITE STAR 200 Extraction Kit**» y «**ELITE STAR**» constituyen **ELITE STAR System**.

Para la extracción automática del ADN de las muestras a analizar, se aconseja utilizar el producto genérico «**ELITE GALAXY 300 Extraction Kit**» (ELITechGroup S.p.A., código INT021EX), kit de extracción de los ácidos nucleicos de muestras biológicas, con el instrumento «**ELITE GALAXY**» (ELITechGroup S.p.A., código INT020). El instrumento «**ELITE GALAXY**» También puede ejecutar la configuración de PCR.

«**ELITE GALAXY 300 Extraction Kit**» y «**ELITE GALAXY**» constituyen **ELITE GALAXY System**.

Para la extracción automática del ADN de las muestras a analizar, también se aconseja utilizar el producto genérico «**NucliSENS® easyMAG® Reagents**» (bioMérieux SA, códigos 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135), kit de extracción de los ácidos nucleicos de muestras biológicas, con el instrumento «**NucliSENS® easyMAG®**» (bioMérieux SA, código 200111).

Para la extracción automática del ADN de las muestras a analizar, se aconseja también el empleo del producto «**QIASymphony® DNA Mini Kit**» (QIAGEN GmbH, código 931236), kit de extracción de los ácidos nucleico de muestras biológicas, con el equipo «**QIASymphony® SP/AS**» (códigos 9001297, 9001301) y los relativos productos genéricos.

Si se utiliza el instrumento «**ELITE InGenius™**» (ELITechGroup S.p.A., código INT030), para la amplificación en real time, se sugiere utilizar los productos genéricos «**ELITE InGenius™ PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A, código INT035PCR), «**Filter tips 300 Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, código 732-0937) y «**ELITE InGenius™ Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A, código F2102-000).

En caso que sea previsto el uso de un equipo 7300 Real-Time PCR System, se aconseja utilizar el producto genérico «**Q - PCR Microplates**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC01) microplacas con pocillos de 0,2 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time.

En caso que sea previsto el uso de un equipo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, se aconseja utilizar el producto genérico «**Q - PCR Microplates Fast**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC02) microplacas con pocillos de 0,1 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time.

En caso que sea necesario la detección de ADN de CMV para el análisis cualitativo se aconseja utilizar el producto «**CMV - ELITE Positive Control**» (ELITechGroup S.p.A. código CTR015PLD), control positivo de ADN de plásmido.

En caso que sea necesario la detección y la cuantificación de ADN de CMV para el análisis cuantitativo se aconseja utilizar el producto «**CMV ELITE Standard**» (ELITechGroup S.p.A., código STD015PLD), cuatro diluciones de ADN plasmídico en cantidad conocida para obtener la curva estándar.

# PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Como control positivo de la extracción de los ácidos nucleicos a partir de muestras no celulares y como control de inhibición se requiere utilizar el producto genérico «CPE - Internal Control» (ELITechGroup S.p.A., código CTCPE), una solución estabilizada que contiene ADN de dos plásmidos y el ARN genómico del fago MS2.

Un factor de conversión permite que los resultados cuantitativos se expresen en unidades internacionales de CMV del "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC, UK, código 09/162).

## 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 las 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 atentamente todas las instrucciones provistas en el producto 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 usar reactivos que provengan de lotes diferentes.
- No utilizar reactivos de otros fabricantes.

### Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, requieren personal competente e 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.

Para la preparación manual, 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.

Para la preparación manual, 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.

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

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

La **CMV Q - PCR Mix** debe ser conservada en lugar oscuro a -20 °C.

La **CMV Q - PCR Mix** puede ser congelado y descongelado por un máximo de **cinco veces**. Otros ciclos de congelación / descongelación pueden provocar una pérdida de las prestaciones del producto.

**ELITE InGenius®**

## MUESTRAS Y CONTROLES

### Muestras

Este producto debe ser utilizado con **ADN extraído** de las siguientes muestras clínicas:

Sangre entera recolectada con EDTA

Las muestras de sangre entera destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectadas con EDTA según las indicaciones del laboratorio, transportadas a +2° / +8° C y conservadas a +2° / +8 °C por un máximo de tres días, de lo contrario deben ser congeladas y conservadas a -20° C por un máximo de treinta días o bien a -70° C por tiempos más prolongados. Se aconseja subdividir en diferentes alícuotas las muestras que deben conservarse congeladas para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación. Cuando se utilizan muestras congeladas, para evitar la posible degradación de los ácidos nucleicos descongelarlas inmediatamente antes de la extracción.

**Nota:** cuando se realiza la extracción del ADN desde muestras de sangre entera con **ELITE InGenius** y con **ELITE InGenius® Software** versión 1.1 (o versiones posteriores equivalentes) utilizar el protocolo de extracción **CMV ELITE\_WB\_200\_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, agrega CPE con 10 µL / extracción y diluye los ácidos nucleicos en 100 µL de agua.

Cuando se usa el tubo primario, el volumen de la muestra varía dependiendo del tipo de tubo que se ha cargado. Para más información para configurar y ejecutar el procedimiento de extracción, consultar las instrucciones de uso del kit de extracción.

Plasma extraído con EDTA

Las muestras de plasma destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectada con EDTA según las indicaciones del laboratorio, transportadas a +2° / +8 °C y conservadas a +2° / +8 °C por un máximo de tres días, de lo contrario deben ser congeladas y conservadas a -20 °C por un máximo de treinta días o bien a -70 °C por tiempos más prolongados.

Se aconseja subdividir en varias alícuotas las muestras que se deben conservar congeladas, para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación.

**Nota:** cuando se realiza la extracción del ADN desde muestras de sangre entera con **ELITE InGenius** y con **ELITE InGenius® Software** versión 1.1 (o versiones posteriores equivalentes) utilizar el protocolo de extracción **CMV ELITE\_PL\_200\_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, agrega CPE con 10 µL / extracción y diluye los ácidos nucleicos en 100 µL de agua.

Cuando se usa el tubo primario, el volumen de la muestra varía dependiendo del tipo de tubo que se ha cargado. Para más información para configurar y ejecutar el procedimiento de extracción, consultar las instrucciones de uso del kit de extracción.

## PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

**REF** RTK015PLD

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

**REF** RTK015PLD

### Líquido cefalorraquídeo

Las muestras de líquido cefalorraquídeo para la extracción de ácido nucleico deben recogerse de acuerdo con las instrucciones del laboratorio para evitar la contaminación con la sangre del paciente, transportarse y almacenarse a +2 / + 8° C durante un máximo de cuatro horas, deben congelarse y almacenarse a -20° C durante un máximo de treinta días o a -70° C durante períodos más largos.

Antes del análisis con este producto, transfiera 0.2 mL de muestra al tubo de sonicación suministrado con «ELITE InGenius SP 200 Consumable Set».

Es aconsejable dividir las muestras que se almacenarán congeladas en varias alícuotas para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación. Cuando use muestras congeladas, descongele las muestras inmediatamente antes de la extracción para evitar la posible degradación de los ácidos nucleicos.

**Nota:** cuando se realiza la extracción de ácido nucleico de muestras de líquido cefalorraquídeo con **ELITE InGenius** y con **ELITE InGenius Software** versión 1.2 (o versiones equivalentes) utilizan el protocolo de extracción **CMV ELITE\_CSF\_200\_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, agrega CPE con 10 µL / extracción y eluye ácidos nucleicos en 100 µL.

### Orina

Las muestras de orina destinados a la extracción de ácidos nucleicos deben ser recogidos en recipientes sin conservantes de acuerdo con las instrucciones del laboratorio, transportado y almacenado a temperatura ambiente (18/25° C) durante un máximo de cuatro horas, o congelados y almacenados a -20° C por hasta 30 días o -70° C por períodos más largos.

Antes del análisis con este producto, transfiera 0.2 mL de muestra al tubo de sonicación suministrado con «ELITE InGenius SP 200 Consumable Set».

Si es posible, evite congelar muestras de orina. La congelación puede causar la precipitación de inhibidores y la pérdida del título del ADN.

En caso de congelación, es aconsejable dividir las muestras en más alícuotas para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación.

**Nota:** Cuando la extracción de ácidos nucleicos a partir de muestras de orina con **Elite InGenius** y **Elite InGenius Software** versión 1.2 (o equivalente superior) utilizan el protocolo de extracción de **CMV ELITE\_U\_200\_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, agrega CPE con 10 µL / extracción y eluye ácidos nucleicos en 100 µL.

### Tampones bucales

Los tampones bucales destinados a la extracción de ácidos nucleicos deben ser recogidos utilizando el sistema «eSwab Collection Kit» (COPAN Italia S.p.A., código 480CE) e identificados de acuerdo con las direcciones del laboratorio. Los hisopos bucales deben ser transportados y almacenados a temperatura ambiente (18/25° C) durante un máximo de cinco días o al 2/8° C durante un máximo de siete días, o congelados y almacenados a -20° C durante hasta seis meses o -70° C durante tiempos más largos.

Antes del análisis con este producto, transfiera 0.2 mL de muestra al tubo de sonicación suministrado con «ELITE InGenius SP 200 Consumable Set».

Es aconsejable dividir las muestras que se almacenarán congeladas en varias alícuotas para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación. Cuando use muestras congeladas, descongele las muestras inmediatamente antes de la extracción para evitar la posible degradación de los ácidos nucleicos.

**Nota:** Cuando la extracción de ácidos nucleicos a partir de hisopos bucales con **Elite InGenius** y **Elite InGenius Software** versión 1.2 (o superior equivalente) utilizan el protocolo de extracción de **CMV ELITE\_BS\_200\_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, agrega CPE con 10 µL / extracción y eluye ácidos nucleicos en 100 µL.

### Líquido amniótico

Las muestras de líquido amniótico para la extracción de ácido nucleico deben recogerse de acuerdo con las instrucciones del laboratorio, transportarse a +2 / + 8° C y almacenarse a +2 / +8° C durante un máximo de cuatro horas, de lo contrario deben ser congelado y almacenado a -20° C por hasta treinta días o a -70° C por períodos más largos.

Antes del análisis con este producto, transfiera 0.2 mL de muestra al tubo de sonicación suministrado con «ELITE InGenius SP 200 Consumable Set».

Es aconsejable dividir las muestras que se almacenarán congeladas en varias alícuotas para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación. Cuando use muestras congeladas, descongele las muestras inmediatamente antes de la extracción para evitar la posible degradación de los ácidos nucleicos.

**Nota:** cuando se realiza la extracción de ácido nucleico a partir de muestras de líquido amniótico con **ELITE InGenius** y con **ELITE InGenius Software** versión 1.2 (o versiones equivalentes) utilice el protocolo de extracción **CMV ELITE\_AF\_200\_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, agrega CPE con 10 µL / extracción y eluye ácidos nucleicos en 100 µL.

### Sustancias interferentes

El ADN extraído de la muestra de partida no debe contener heparina, hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol o 2-propanol para evitar fenómenos de inhibición y la aparición de frecuentes resultados no válidos.

Cantidades elevadas de ADN genómico humano en el ADN extraído de la muestra pueden inhibir la reacción de amplificación.

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

### Controles de amplificación

Antes de analizar las muestras es imprescindible generar y aprobar la curva de calibración y la validación de los reactivos para cada lote de amplificación del reactivo:

- como calibradores, utilice los cuatro niveles de concentración del **CMV ELITE Standard**, en asociación con el protocolo «**CMV ELITE\_STD**»,

- como control de amplificación positiva, utilice el **CMV – ELITE Positive Control**, en asociación con el protocolo «**CMV ELITE\_PC**»,

- como control de amplificación negativo, utilice agua ultrapura para biología molecular (no incluida en el kit) en asociación con el protocolo «**CMV ELITE\_NC**».

**Nota:** **ELITE InGenius** con **ELITE InGenius Software** que permite memorizar en su base de datos la curva de calibración y la validación de los resultados de control de la amplificación para cada lote de reactivo de amplificación.

Las curvas de calibración, aprobadas y memorizadas en la base de datos, vencen después de **30 días**. A la fecha de vencimiento se debe repetir la configuración de la calibración.

La validación de los resultados de control de la amplificación, aprobados y memorizados en la base de datos, vence después de **15 días**. A la fecha de vencimiento es necesario repetir los controles positivos y negativos.

Los calibradores y los controles de amplificación deben ser probados nuevamente si se presenta uno de los siguientes eventos:

- Se comienza un nuevo lote de reactivos de amplificación,
- Los resultados de los análisis de control de calidad (ver el apartado siguiente) no concuerdan con las especificaciones,
- Todas las intervenciones de mantenimiento principal se ejecutan en el instrumento **ELITE InGenius**.

### Controles de calidad

Utilizar los controles externos conforme con las leyes locales, estatales y con las organizaciones de acreditación federal. El "Q Panel" (código proveniente de Qs, Reino Unido) es un ejemplo de controles externos disponibles en el comercio.

# PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

## PROCEDIMIENTO

El procedimiento consta de tres fases:

- Verificación de que el sistema esté preparado
- Configuración de la sesión
- Examen y aprobación de los resultados

### Verificación de que el sistema esté preparado

Antes de iniciar la sesión, consultar la documentación del instrumento para efectuar las siguientes tareas:

- encender **ELITe InGenius** y seleccionar el modo "CLOSED";
- verificar (Calibration) que los calibradores (Q-PCR estándar) hayan sido ejecutados, aprobados y no estén vencidos (status). Estos controles se pueden ejecutar desde el menú "Calibration" de la "Home page";
- verificar (Controls) que los controles de amplificación (Positive Control, Negative Control) hayan sido ejecutados, aprobados y no estén vencidos (status). Estos controles se pueden ejecutar desde el menú "Control" de la "Home page";
- seleccionar el tipo de ciclo y configurarlo siguiendo las instrucciones para configurar la sesión, utilizando los protocolos de las pruebas suministrados por ELITechGroup. Estos protocolos IVD han sido validados específicamente con los kits ELITe MGB y el instrumento **ELITe InGenius**.

Los protocolos de la prueba disponible para el kit CMV ELITe MGB se describe en la siguiente tabla.

Protocolo de la prueba para el kit CMV ELITe MGB			
Nombre	Matriz	Relación unitaria	Características
CMV ELITe_WB_200_100	Sangre Entera	gEq/mL o UI/mL	Volumen de extracción inicial: 200 µL Volumen de Eluato extraído: 100 µL Control Interno: 10 µL Sonicación: NO Volumen PCR Mix: 20 µL PCR volumen inicial de la muestra: 20 µL
CMV ELITe_PL_200_100	Plasma	gEq/mL o UI/mL	Volumen de extracción inicial: 200 µL Volumen de Eluato extraído: 100 µL Control Interno: 10 µL Sonicación: NO Volumen PCR Mix: 20 µL PCR volumen inicial de la muestra: 20 µL
CMV ELITe_CSF_200_100	Líquido cefalorraquídeo	gEq/mL o UI/mL	Volumen de extracción inicial: 200 µL Volumen de Eluato extraído: 100 µL Control Interno: 10 µL Sonicación: NO Volumen PCR Mix: 20 µL PCR volumen inicial de la muestra: 20 µL
CMV ELITe_U_200_100	Orina	gEq/mL o UI/mL	Volumen de extracción inicial: 200 µL Volumen de Eluato extraído: 100 µL Control Interno: 10 µL Sonicación: NO Volumen PCR Mix: 20 µL PCR volumen inicial de la muestra: 20 µL
CMV ELITe_BS_200_100	Tampones bucales	gEq/mL o UI/mL	Volumen de extracción inicial: 200 µL Volumen de Eluato extraído: 100 µL Control Interno: 10 µL Sonicación: NO Volumen PCR Mix: 20 µL PCR volumen inicial de la muestra: 20 µL
CMV ELITe_AF_200_100	Líquido amniótico	gEq/mL o UI/mL	Volumen de extracción inicial: 200 µL Volumen de Eluato extraído: 100 µL Control Interno: 10 µL Sonicación: NO Volumen PCR Mix: 20 µL PCR volumen inicial de la muestra: 20 µL

Si el protocolo de la prueba buscado no se encuentra en el sistema, comunicarse con el Servicio al Cliente local de ELITechGroup.

Los protocolos para el análisis cualitativo están disponibles a pedido.

BIODIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TÉCNICA  
BIOQUÍMICA  
APODERADA





### Configuración de la sesión

El **CMV ELITe MGB** kit asociado con **ELITe InGenius** se puede utilizar para ejecutar:

- Ciclo integrado (Extract + PCR),
- Ciclo de amplificación (PCR only),
- Calibración del ciclo (PCR only),
- Ciclo de amplificación para el control positivo y el control negativo (PCR only)

El perfil térmico de amplificación está incluido en el protocolo de la prueba disponible en el instrumento y se activa automáticamente cuando se selecciona el protocolo de dosificación.

**Nota:** El sistema **ELITe InGenius** se puede conectar al "Servidor de información de ubicación" (LIS) a través del cual se puede enviar la información de configuración de la sesión. Para información detallada, consulte el manual de instrucciones del instrumento.

Los siguientes son los principales pasos para configurar los cinco tipos de ciclos.

#### A Ciclo integrado

Para configurar el ciclo integrado atenerse a las siguientes indicaciones visualizadas en **SW Graphical User Interface (GUI)**:

- Descongelar los tubos de CMV Q - PCR Mix necesarios para la sesión. Cada probeta alcanza para preparar 24 reacciones en condiciones óptimas de consumo de reactivos. Mezclar delicadamente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
- Descongelar los tubos de CPE necesarios para la sesión. Cada tubo es suficiente para 12 extracciones. Mezclar delicadamente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
- Seleccionar "Perform Run" desde la pantalla "Home".
- Asegurarse de que el volumen de extracción inicial sea de 200 µL y que el volumen del Eluato extraído sea de 100 µL.
- Para cada pista completar el "SampleID" (SID) ingresando o leyendo el código de barras de la muestra.
- Seleccionar el protocolo del test que se debe utilizar en la columna "Assay" (por ejemplo CMV ELITe\_WB\_200\_100).
- Asegurarse de que el "Protocol" visualizado sea: "Extract + PCR".
- Seleccionar la posición de carga de la muestra en la columna "Sample Position": si se utiliza un tubo primario, seleccionar "Primary Tube"; si se utiliza un tubo secundario, seleccionar "Sonication Tube". Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
- Cargar el CPE y la Q-PCR Mix en el Inventory Block seleccionado, siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica del usuario. Consultar el manual de uso del instrumento para configurar el Inventory Block, si es necesario. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
- Cargar / controlar los Rack de puntas en la Inventory Area seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica del usuario. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
- Cargar las muestras que se deben extraer en la posición indicada en el punto 8, los cartuchos de extracción, los cassette de PCR y todos los productos de consumo, siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica del usuario. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
- Cerrar la portezuela del instrumento.
- Presionar "Start" para iniciar el ciclo.

Al finalizar el procedimiento, el **ELITe InGenius** permite visualizar, aprobar, memorizar los resultados, imprimir y guardar el informe.

Cuando el sistema está inactivo, se puede abrir la portezuela (End of Run) y retirar del instrumento los materiales de consumo.

**Nota:** Al finalizar el ciclo se puede retirar la muestra primaria que quedó en el instrumento, tapanla, identificarla y conservarla a -20 °C. Evitar derramar la muestra mientras se la retira.

**Nota:** Al final del ciclo se deben retirar del instrumento los cassette PCR con los reactivos y eliminarlos sin contaminar el medio ambiente. Evitar que los reactivos se derramen.

**Nota:** Al finalizar el ciclo se puede conservar la PCR mix en el bloque refrigerado hasta **16 horas**.

### B Ciclo de amplificación

Para configurar el ciclo de amplificación seguir las indicaciones que aparecen en la GUI:

- Descongelar los tubos de CMV Q - PCR Mix necesarios para la sesión. Cada probeta alcanza para preparar 24 reacciones en condiciones óptimas de consumo de reactivos. Mezclar delicadamente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
- Seleccionar "Perform Run" desde la pantalla "Home".
- Asegurarse de que el volumen de extracción inicial sea de 200 µL y que el volumen del Eluato extraído sea de 100 µL.
- Para cada pista completar el "SampleID" (SID) ingresando o leyendo el código de barras de la muestra.
- Seleccionar el protocolo del test que se debe utilizar en la columna "Assay" (por ejemplo CMV ELITe\_WB\_200\_100).
- Seleccionar "PCR Only" en la columna "Protocol".
- Asegurarse de cargar la muestra eluida en "ExtraTube (posición 1)" en la columna "Sample Position". Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
- Cargar la Q-PCR Mix en el Inventory Block seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica del usuario. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
- Cargar / controlar los Rack de puntas en la Inventory Area seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica del usuario. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
- Cargar las muestras de los ácidos nucleicos extraídos y el cassette PCR, siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica del usuario. Consultar el manual de uso del instrumento para configurar el Inventory Block, si es necesario. Hacer clic en el pulsador "Next" para continuar con el procedimiento.
- Cerrar la portezuela del instrumento.
- Presionar "Start" para iniciar el ciclo.

Al finalizar el procedimiento, el **ELITe InGenius** permite visualizar, aprobar, memorizar los resultados, imprimir y guardar el informe.

**Nota:** Al finalizar el ciclo se puede retirar la muestra que quedó en el instrumento, tapanla, identificarla y conservarla a -20 °C. Evitar derramar la muestra mientras se la retira.

**Nota:** Al final del ciclo se deben retirar del instrumento los cassette PCR con los reactivos y eliminarlos sin contaminar el medio ambiente. Evitar que los reactivos se derramen.

**Nota:** Al finalizar el ciclo se puede conservar la PCR mix en el bloque refrigerado hasta **16 horas**.

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**C Ciclo de calibración**

Para configurar el ciclo de calibración seguir las indicaciones que aparecen en la GUI:

1. Descongelar los tubos de CMV Q - PCR Mix necesarios para la sesión. Cada probeta es suficiente para preparar 24 reacciones en condiciones óptimas de consumo de reactivos. Mezclar delicadamente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Descongelar los tubos de CMV ELITE Standard (Cal1: CMV Q-PCR Standards 10<sup>2</sup>, Cal2: CMV Q-PCR Standards 10<sup>3</sup>, Cal3: CMV Q-PCR Standards 10<sup>4</sup>, Cal4: CMV Q-PCR Standards 10<sup>5</sup>). Cada tubo es suficiente para 8 extracciones. Mezclar delicadamente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
3. Seleccionar "Perform Run" desde la pantalla "Home".
4. Asegurarse de que el volumen de extracción inicial sea de 200 µL y que el volumen del Eluato extraído sea de 100 µL.
5. A partir de la pista de interés, seleccionar el protocolo de dosificación que se debe utilizar en la columna "Assay" CMV ELITE STD) y completar el número de lote y la fecha de vencimiento para el Q - PCR estándar. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
6. Cargar la Q-PCR Mix en el Inventory Block seleccionado siguiendo las instrucciones de la GUI. Consultar el manual de uso del instrumento para configurar el Inventory Block, si es necesario. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
7. Cargar / controlar los Rack de puntas en la Inventory Area seleccionada siguiendo las GUI. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
8. Cargar los tubos de calibración y el cassette PCR, siguiendo las instrucciones de la GUI. Consultar el manual de uso del instrumento para configurar el Inventory Block, si es necesario. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
9. Cerrar la portezuela del instrumento.
10. Presionar "Start" para iniciar el ciclo.

Al finalizar el procedimiento, el **ELITE InGenius** permite visualizar, aprobar, memorizar los resultados, imprimir y guardar el informe.

**Nota:** Al finalizar el ciclo se puede retirar el estándar que quedó en el instrumento, tapanlo y conservarlo a -20 °C.

**Nota:** Al final del ciclo se deben retirar del instrumento los cassette PCR con los reactivos y eliminarlos sin contaminar el medio ambiente. Evitar que los reactivos se derramen.

**Nota:** Al finalizar el ciclo se puede conservar la PCR mix en el bloque refrigerado hasta **16 horas**.

**D. Ciclo de amplificación para el Control Positivo y el Control Negativo**

Para configurar el ciclo de amplificación del Control Positivo seguir las indicaciones que aparecen en la GUI:

1. Descongelar los tubos de CMV Q - PCR Mix necesarios para la sesión. Cada probeta es suficiente para preparar 24 reacciones en condiciones óptimas de consumo de reactivos. Mezclar delicadamente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Descongelar el producto CMV ELITE Positive Control para la amplificación del Control Positivo. Descongelar un tubo a temperatura ambiente. Cada tubo es suficiente para 2 extracciones. Mezclar delicadamente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
3. Verter el agua de grado molecular para las sesiones en una probeta de elución, suministrada con ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
4. Seleccionar "Perform Run" desde la pantalla "Home".
5. A partir de la pista de interés, seleccionar el protocolo de dosificación que se debe utilizar en la columna "Assay".
6. Seleccionar CMV ELITE\_PC para el Control Positivo y completar el número de lote y la fecha de vencimiento para - Positive Control (Control Positivo).
7. Seleccionar CMV ELITE\_NC y completar el número de lote y la fecha de vencimiento para el Control Negativo CMV.
8. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
9. Cargar la CMV Q-PCR Mix en el Inventory Block seleccionado siguiendo las instrucciones de la GUI. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
10. Cargar / controlar los Rack de puntas en la Inventory Area seleccionada siguiendo las instrucciones de la GUI. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
11. Cargar el cassette PCR, el Control Positivo y el Control Negativo siguiendo las instrucciones de la GUI. Hacer clic en "Next" para continuar con el procedimiento.
12. Cerrar la portezuela del instrumento.
13. Presionar "Start" para iniciar el ciclo.

Al finalizar el procedimiento, el **ELITE InGenius** permite visualizar, aprobar, memorizar los resultados, imprimir y guardar el informe.

**Nota:** El Control Positivo se debe ejecutar como control de amplificación, para configurar el documento de control. Para configurar el gráfico se requieren cuatro (4) valores de control positivo en 4 sesiones distintas. Después de lo cual el instrumento memoriza los valores del control positivo y los utiliza para el seguimiento de la fase de amplificación. Consultar el manual de uso del instrumento para más detalles.

**Nota:** Al finalizar el ciclo se puede retirar el Control Positivo que quedó en el instrumento, tapanlo, identificarlo y conservarlo a -20 °C. Evitar derramar la muestra mientras se la retira.

**Nota:** Al final del ciclo se deben retirar del instrumento los cassette PCR con los reactivos y eliminarlos sin contaminar el medio ambiente. Evitar que los reactivos se derramen.

**Nota:** Al finalizar el ciclo se puede conservar la PCR mix en el bloque refrigerado hasta **16 horas**.

BIODIAGNOSTICA S.A.  
 LAURA E. MERCAPIDE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 BIOQUÍMICA  
 APODERADA



## PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

**REF** RTK015PLD

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

**REF** RTK015PLD

### Examen y aprobación de los resultados

Al finalizar el ciclo se visualiza automáticamente la pantalla "Results Display". En esta pantalla se visualizan los resultados relativos a muestra / calibrador / control y la información pertinente al ciclo. A partir de esta pantalla se puede aprobar el resultado, imprimir o guardar los informes ("Sample Report" o "Track Report").

**Nota:** Consultar el manual de instrucciones del instrumento **ELITe InGenius** para más detalles.

**ELITe InGenius** genera los resultados con el producto **CMV ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- A. Validación de la curva de calibración,
- B. Validación de los resultados de amplificación del Control Positivo y del Control Negativo
- C. Validación de los resultados de la muestra,
- D. Generación del informe con los resultados de la muestra.

### A. Validación de la curva de calibración

Las señales fluorescentes emitidas por la sonda específica para CMV (FAM, Channel 1 "CMV"), en las reacciones de amplificación del calibrador, son analizadas automáticamente e interpretadas por el software del instrumento con los parámetros incluidos en el protocolo de la prueba "CMV ELITe\_STD".

La curva de calibración para el lote del reactivo de amplificación se memoriza en la base de datos y puede ser visualizada y aprobada por el personal con función de "Administrador" o "Analista", siguiendo las instrucciones de la GUI. La curva de calibración específica para el lote del reactivo de amplificación, vence después de 30 días.

Antes de analizar las muestras es obligatorio generar y aprobar la curva de calibración para el lote de reactivo de amplificación utilizado. La disponibilidad de una curva de calibración y los resultados del control de amplificación "Aprobados" (Status) se visualizan en la pantalla "Calibration" del software ELITe InGenius.

**Nota:** Cuando la curva de calibración no satisface los criterios de aceptación, el instrumento visualiza el mensaje "not passed" en el menú "Calibration" y no es posible aprobarla. En ese caso se deben repetir las reacciones de amplificación del calibrador.

**Nota:** En caso de que la curva de calibración se cargue con las muestras y el resultado no sea válido, toda la sesión no será válida y la amplificación de todas las muestras tendrá que repetirse.

### B. Validación de los resultados de amplificación del Control Positivo y del Control Negativo

Las señales fluorescentes emitidas por la sonda específica para CMV (FAM, Channel 1 "CMV"), en las reacciones de amplificación del Control Positivo y del Control Negativo, son analizadas automáticamente e interpretadas por el software del instrumento con los parámetros incluidos en el protocolo de la prueba "CMV ELITe\_PC" y "CMV ELITe\_NC".

Los resultados de amplificación del Control Positivo y del Control Negativo, específicos para el lote de reactivo de amplificación, se memorizan en la base de datos y pueden ser visualizados y aprobados (Controls) por el personal con función de "Administrador" o "Analista", siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica del usuario.

Los resultados de amplificación del Control Positivo y del Control Negativo, específicos para el lote de reactivo de amplificación, vencen después de 15 días.

Antes de analizar una muestra y después de haber aprobado la curva de calibración, es obligatorio generar y aprobar el resultado de la amplificación del Control Positivo y del Control Negativo para el lote de reactivo de amplificación utilizado. La disponibilidad del resultado del Control Positivo y del Control Negativo de amplificación "Aprobado" (Status) se visualiza en la pantalla "Controls" del software ELITe InGenius.

**Nota:** Cuando el Control Positivo no satisface los criterios de aceptación, el instrumento visualiza el mensaje "not passed" y no es posible aprobarlo. En ese caso se deben repetir las reacciones de amplificación del Control Positivo y del Control Negativo.

**Nota:** Cuando se ejecuta el Control Positivo como control de amplificación con las muestras y el resultado no es válido, se invalida toda la sesión y se debe repetir la amplificación de todas las muestras.

### C. Validación de los resultados de la muestra

Las señales fluorescentes emitidas por la sonda específica para CMV (FAM, Channel 1 "CMV") y por la sonda específica para el Control Interno (AP525, Channel 2 "IC"), en cada reacción de amplificación, son analizadas automáticamente e interpretadas por el software del instrumento con los parámetros incluidos en el protocolo de la prueba.

**Nota:** Antes de analizar cada una de las muestras es obligatorio generar y aprobar la curva de calibración y la validación de los reactivos de amplificación para el lote de reactivo utilizado. Se recomienda, pero es opcional, ejecutar el Control Positivo y Negativo junto a los calibradores. La disponibilidad de una curva de calibración y de amplificación y los resultados del Control Positivo y Negativo "Approved" (Status) se visualizan en las pantallas "Calibration" y "Controls" del software ELITe InGenius. y se informan en la sección "Assay Parameters".

Los resultados se describen en los informes generados por el instrumento ("Result Display").

El ciclo de la muestra es válido cuando se cumplen las tres condiciones indicadas en la tabla siguiente.

1) Curva de calibración	Status
CMV Q-PCR Standard	APPROVED
2) Control Positivo	Status
CMV Positive Control	APPROVED
3) Control Negativo	Status
CMV Negative Control	APPROVED

Para cada muestra, el sistema interpreta automáticamente el resultado del ensayo según lo establecido por el algoritmo del software **ELITe InGenius** y los parámetros del protocolo del ensayo.

Para cada muestra el sistema ejecuta automáticamente el cálculo de la carga viral. La medida es expresada en "gEq / mL" or "IU / mL" como lo determina el protocolo de la muestra.

En la tabla siguiente se visualizan los posibles mensajes referidos al resultado de una muestra.

Resultado del ciclo de la muestra	Interpretación
CMV: DNA Detected, quantity equal to XXX gEq / mL or IU / mL	La cantidad de <b>ADN de CMV detectado</b> coincide con el intervalo de medición de la prueba, como se indica.
CMV: DNA Detected, quantity below LLoQ gEq / mL or IU / mL	El <b>ADN de CMV detectado</b> está por debajo del límite inferior de cuantificación de la prueba
CMV: DNA Detected, quantity beyond ULoQ gEq / mL or IU / mL	El <b>ADN de CMV detectado</b> supera el límite superior de cuantificación de la prueba
CMV: DNA Not Detected or below LoD gEq / mL or IU / mL	<b>ADN no detectado o inferior al límite de detección</b> de la prueba.
Invalid - Retest Sample	<b>El resultado de la prueba no es válido</b> por un error de control interno

Las muestras que no son adecuadas para interpretar los resultados se informan como "Muestra no validada" por el software **ELITe InGenius**. En este caso no fue posible detectar eficientemente el ADN del Control Interno porque hubo problemas en la fase de amplificación o en la fase de extracción (degradación del ADN, pérdida de ADN durante la extracción o presencia de inhibidores en el extracto) que puede causar resultados incorrectos y falsos negativos.

Cuando el volumen del eluido es suficiente, la muestra extraída se puede volver a analizar por amplificación en el modo "Sólo PCR". Si se confirma el resultado no válido, se debe volver a analizar la prueba a partir de la extracción de una nueva alícuota utilizando el modo "Extraer + PCR".

Las muestras adecuadas en las que no se pudo detectar ADN de CMV se informan como "ADN no detectado o debajo de LoD". En este caso, no puede excluirse que el ADN del CMV esté presente en un título por debajo del límite de detección del producto (consulte el párrafo "Características de rendimiento").

**Nota:** Los resultados obtenidos con este dosaje deben interpretarse considerando todos los datos clínicos y los demás exámenes de laboratorio del paciente.

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados del ciclo de la muestra se memorizan en la base de datos y pueden ser visualizados y aprobados (Result Display) por el personal con función de "Administrador" o "Analista", siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica del usuario. Desde la pantalla "Result Display" se pueden imprimir y guardar los resultados. Ejecutar como "Sample Report" y "Track Report".

**D. Generación del informe de los resultados de la muestra**

Los resultados de la muestra se memorizan en la base de datos y se pueden visualizar como "Sample Report" y "Track Report".

El "Sample Report" muestra los detalles del ciclo de la muestra seleccionada para el ID de la muestra, por ejemplo del paciente.

El "Track Report" muestra los detalles de un ciclo de la muestra pista por pista.

Los "Sample Report" y el "Track Report" pueden imprimirse y firmarse por personal autorizado.

**CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES**

**Sensibilidad analítica: límite de detección**

La sensibilidad analítica de esta prueba, como límite de detección, permite detectar la presencia de aproximadamente 10 genomas de ADN en las 10 µL de ADN agregadas a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de la prueba, como límite de detección, ha sido probada utilizando un ADN plasmídico que contiene el producto de amplificación, cuya concentración inicial ha sido medida con un espectrofotómetro. El ADN plasmídico ha sido diluido con un título de 10 copias / 20 µL en ADN genómico humano con un título de 500 ng / 20 µL. Esta muestra fue utilizada en 12 repeticiones para realizar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A en dos instrumentos diferentes. Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
10 copias ADN plasmídico + 500 ng de ADN genómico humano	24	23	1

La sensibilidad analítica del ensayo con las diferentes matrices se verificó usando un panel de diluciones de CMV y en asociación con **ELITE InGenius**. El panel se preparó diluyendo la "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (código de NIBSC 09/162, Reino Unido) en una matriz negativo para ADN de CMV. El panel se compone de al menos seis puntos alrededor concentración límite y cada punto del panel se puso a prueba en al menos 12 réplicas que realizan todo el procedimiento de análisis, la interpretación preparación de la carrera, la extracción, amplificación y en tiempo real de los resultados con **Elite InGenius** y productos ELITechGroup SpA el análisis estadístico se realizó con Regresión Probit El límite de detección se ha definido como la concentración a la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es igual al 95%.

Los resultados finales para cada matriz se muestran en las siguientes tablas.

Límite de detección con ELITE InGenius (UI / mL)			
Matriz	95% positividad	Intervalo de fiabilidad del 95%	
		valor inferior	valor inferior
sangre entera	109 UI / mL	71 UI / mL	239 UI / mL
plasma	88 UI / mL	50 UI / mL	291 UI / mL
líquido cefalorraquídeo	58 UI / mL	48 UI / mL	82 UI / mL
orina	151 UI / mL	119 UI / mL	214 UI / mL
tampones bucales	44 UI / mL	36 UI / mL	57 UI / mL
líquido amniótico	57 UI / mL	46 UI / mL	78 UI / mL

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La sensibilidad analítica expresada en gEq / mL se calculó aplicando para cada matriz el factor de conversión específico que se muestra en la página. 23.

La sensibilidad analítica para cada matriz como gEq / mL se muestra a continuación..

Límite de detección con ELITE InGenius (gEq / mL)			
Matriz	95% positividad	Intervalo de fiabilidad del 95%	
		valor inferior	valor inferior
sangre entera	156 gEq / mL	99 gEq / mL	332 gEq / mL
plasma	293 gEq / mL	166 gEq / mL	970 gEq / mL
líquido cefalorraquídeo	193 gEq / mL	160 gEq / mL	273 gEq / mL
orina	216 gEq / mL	170 gEq / mL	306 gEq / mL
tampones bucales	220 gEq / mL	180 gEq / mL	285 gEq / mL
líquido amniótico	285 gEq / mL	230 gEq / mL	390 gEq / mL

**Intervalo de medición lineal**

La sensibilidad analítica de esta prueba, como intervalo de medición lineal, permite detectar de aproximadamente 50.000.000 a casi 500 genomas equivalentes por mL.

La sensibilidad analítica de la prueba ha sido determinada utilizando un panel de diluciones (1 Log<sup>10</sup> entre una dilución y la siguiente) de ADN plasmídico que contiene el producto de amplificación, cuya concentración inicial ha sido medida con el espectrofotómetro. Los puntos del panel de 106 moléculas por reacción a 101 moléculas por reacción han sido utilizados en 5 repeticiones para efectuar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis de los datos obtenidos, realizado con la regresión lineal, ha demostrado que la prueba presenta una respuesta lineal para todos los puntos del panel (coeficiente de correlación lineal superior a 0,99).

La linealidad del ensayo con las diferentes matrices se verificó usando un panel de diluciones de CMV y en asociación con **Elite InGenius**. El panel se preparó diluyendo el "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (código de NIBSC 09/162, Reino Unido) en una matriz negativo para ADN de CMV. El panel tenía 5 etapas de dilución de 1 Log 10 -10, UI / mL. Cada punto del panel se ensayó en al menos 3 réplicas que realizan todo el procedimiento de análisis, la interpretación preparación de la carrera, la extracción, amplificación y en tiempo real de los resultados con **ELITE InGenius** y ELITechGroup SpA el análisis de los datos obtenidos, realizados con regresión lineal, ha demostrado que el ensayo tiene una respuesta lineal para todos los puntos del panel.

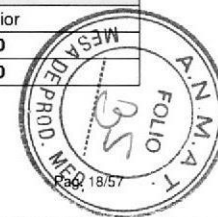
El límite inferior del rango de medición lineal se ha establecido en la concentración más baja con resultados cuantitativos 100% positivos precisos. El límite superior del rango de medición lineal se ha establecido en la concentración más alta probada que proporciona resultados cuantitativos precisos.

Los límites del rango de medición lineal como gEq / mL se calcularon aplicando para cada matriz el factor de conversión específico que se muestra en la página. 23.

Los resultados finales para cada matriz se muestran en las siguientes tablas.

Intervalo de medición lineal con muestras de sangre entera y ELITE InGenius		
	Límite inferior	Límite superior
UI / mL	178	35.000.000
gEq / mL	254	50.000.000

Intervalo de medición lineal con muestras de plasma y ELITE InGenius		
	Límite inferior	Límite superior
UI / mL	178	15.000.000
gEq / mL	593	50.000.000



BIODIAGNOSTICO S.A.  
 LAURA E. MERCAPIDE  
 DIRECTORA TECNICA  
 BIOQUIMICA



PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Intervalo de medición lineal con muestras de líquido cefalorraquídeo y ELITE InGenius		
	Límite inferior	Límite superior
UI / mL	100	15.000.000
gEq / mL	335	50.000.000

Intervalo de medición lineal con muestras de orina y ELITE InGenius		
	Límite inferior	Límite superior
UI / mL	316	35.000.000
gEq / mL	451	50.000.000

Intervalo de medición lineal con muestras de tampones bucales y ELITE InGenius		
	Límite inferior	Límite superior
UI / mL	100	10.000.000
gEq / mL	500	50.000.000

Intervalo de medición lineal con muestras de líquido amniótico y ELITE InGenius		
	Límite inferior	Límite superior
UI / mL	100	10.000.000
gEq / mL	500	50.000.000

**Precisión y Exactitud Inter-sesiones**

La precisión del ensayo, tales como la variabilidad de los resultados obtenidos en las sesiones de amplificación realizadas en días diferentes, ha permitido obtener una variación del coeficiente de porcentaje (CV%) del máximo Ct valores inferiores a 1,5%, en el intervalo de 10<sub>5</sub> genomas Equivalente a 10<sub>2</sub> genomas Equivalente por reacción.

La precisión del ensayo, tales como la variabilidad de los resultados obtenidos en las sesiones de amplificación realizadas en días diferentes, ha permitido obtener una variación del coeficiente de porcentaje (% CV) El promedio de la cantidad medida de aproximadamente 19%, en el intervalo de 10<sub>5</sub> genomas Equivalentes 102 genomas Equivalente para mL.

La exactitud del ensayo, ya que la diferencia entre los resultados promedio obtenidos en las sesiones de amplificación llevadas a cabo durante varios días y el valor teórico de la concentración de la muestra, da un promedio de las cantidades medidas de aproximadamente 26%, rango de 10<sup>5</sup> genomas equivalentes a 10<sup>2</sup> genes equivalentes por mL.

**Precisión y Exactitud Intra-sesiones**

La precisión del ensayo, como la variabilidad de los resultados obtenidos en las sesiones de amplificación en el mismo día, permitió obtener un coeficiente de variación porcentual promedio (CV%) de los valores de Ct inferiores al 1%, en el rango de 2 x 10<sub>6</sub> genomas Equivalente a 2 x 10<sub>1</sub> genomas Equivalente por reacción.

La precisión del ensayo, como la variabilidad de los resultados obtenidos en sesiones de amplificación en el mismo día, permitió obtener un porcentaje de coeficiente de variación (CV%) promedio de las cantidades medidas de aproximadamente 20%, 5 x 10<sub>7</sub> genomas Equivalente a 5 x 10<sub>2</sub> genomas Equivalentes para mL.

La exactitud del ensayo, ya que la diferencia entre el promedio de los resultados obtenidos en las sesiones de amplificación en el mismo día y el valor teórico de la concentración de la muestra, permitió obtener una precisión porcentual promedio de las cantidades medidas de aproximadamente 17%, en el rango de 5 x 10<sup>7</sup> genomas Equivalente a 5 x 10<sup>2</sup> genomas Equivalente para mL.

La exactitud y precisión se determinaron utilizando los datos obtenidos en las pruebas para el estudio del rango de medición lineal.

La precisión del ensayo en la matriz, como variabilidad de los resultados obtenidos el mismo día, se evaluó como Coeficiente de variación porcentual (CV%) de los valores de Ct y como desviación estándar (SD) de la Cantidad expresada en UI log / mL. Los paneles CMV probados son los utilizados en las pruebas para el estudio del rango de medición lineal. Los resultados finales para cada matriz se muestran en las siguientes tablas.

Precisión con muestras de sangre entera y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	CV% de CMV Ct	SD Log UI / mL
1000000	6,000	0,54	0,043
100000	5,000	2,36	0,215
10000	4,000	0,24	0,025
1000	3,000	0,97	0,114
100	2,000	2,96	0,384

Precisión con muestras de plasma y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	CV% de CMV Ct	SD Log UI / mL
1000000	6,000	0,46	0,032
100000	5,000	0,26	0,020
10000	4,000	0,59	0,053
1000	3,000	1,14	0,115
100	2,000	2,61	0,295

Precisión con muestras de líquido cefalorraquídeo y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	CV% de CMV Ct	SD Log UI / mL
1000000	6,000	0,61	0,046
100000	5,000	0,05	0,004
10000	4,000	0,07	0,007
1000	3,000	0,95	0,104
100	2,000	1,81	0,215

Precisión con muestras de orina y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	CV% de CMV Ct	SD Log UI / mL
1000000	6,000	0,40	0,029
100000	5,000	0,96	0,080
10000	4,000	0,92	0,086
1000	3,000	0,76	0,081
100	2,000	1,06	0,123

Precisión con muestras de tampones bucales y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	CV% de CMV Ct	SD Log UI / mL
1000000	6,000	0,49	0,037
100000	5,000	0,60	0,051
10000	4,000	0,67	0,063
1000	3,000	0,71	0,073
100	2,000	2,67	0,306

PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Precisión con muestras de líquido amniótico y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	CV% de CMV Ct	SD Log UI / mL
1000000	6,000	0,51	0,036
100000	5,000	0,78	0,064
10000	4,000	0,95	0,086
1000	3,000	0,70	0,071
100	2,000	1,76	0,203

La exactitud del ensayo en la matriz, como concordancia del valor medio medido en el mismo día con el valor teórico, se evaluó como una desviación del valor teórico del valor medio de la cantidad medida expresada en Log UI / mL. Los paneles CMV probados son los utilizados en las pruebas para el estudio del rango de medición lineal. Los resultados se muestran en las siguientes tablas.

Exactitud con muestras de sangre entera y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	Promedio de los resultados Log UI / mL	Bias Log UI / mL
1000000	6,000	6,361	0,361
100000	5,000	5,212	0,355
10000	4,000	3,860	0,003
1000	3,000	2,554	0,303
100	2,000	1,592	0,266

Exactitud con muestras de plasma y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	Promedio de los resultados Log UI / mL	Bias Log UI / mL
1000000	6,000	6,217	0,217
100000	5,000	5,197	0,197
10000	4,000	4,222	0,222
1000	3,000	3,162	0,162
100	2,000	1,981	0,019

Exactitud con muestras de líquido cefalorraquídeo y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	Promedio de los resultados Log UI / mL	Bias Log UI / mL
1000000	6,000	6,157	0,157
100000	5,000	5,040	0,040
10000	4,000	4,036	0,036
1000	3,000	2,888	0,112
100	2,000	1,956	0,044

Exactitud con muestras de orina y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	Promedio de los resultados Log UI / mL	Bias Log UI / mL
1000000	6,000	6,495	0,495
100000	5,000	5,400	0,400
10000	4,000	4,333	0,333
1000	3,000	3,228	0,228
100	2,000	2,107	0,107

Exactitud con muestras de tampones bucales y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	Promedio de los resultados Log UI / mL	Bias Log UI / mL
1000000	6,000	5,934	0,066
100000	5,000	4,844	0,156
10000	4,000	3,910	0,090
1000	3,000	2,889	0,111
100	2,000	1,778	0,222

Exactitud con muestras de líquido amniótico y ELITE InGenius			
Título teórico UI / mL	Título teórico Log UI / mL	Promedio de los resultados Log UI / mL	Bias Log UI / mL
1000000	6,000	6,074	0,074
100000	5,000	5,004	0,004
10000	4,000	3,997	0,003
1000	3,000	2,939	0,061
100	2,000	1,660	0,340

**Sensibilidad analítica: reproducibilidad con panel de material de referencia certificado**

La sensibilidad analítica de la prueba, como reproducibilidad de los valores de material de referencia calibrado, ha sido verificada probando dos paneles de diluciones seriales de CMV.

La sensibilidad analítica de la prueba ha sido evaluada utilizando como material de referencia calibrado, dos paneles de « CMV Molecular "Q" Panel» (Qnostics, Ltd). Cada muestra del panel fue utilizada en 2 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción, amplificación, detección e interpretación de los resultados con **ELITE InGenius™ System** y los productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados en UI/mL han sido calculados aplicando el factor de conversión para **ELITE InGenius™ System** y plasma y se indican en la siguiente tabla.

Pruebas con material de referencia certificado y ELITE InGenius System				
Muestra	Título nominal UI / mL	Título nominal Log <sub>10</sub>	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log <sub>10</sub> UI / mL
CMVMQP01-High	10 <sup>5</sup>	5,000	2/2	5,024
CMVMQP01-Medium	10 <sup>4</sup>	4,000	2/2	3,996
CMVMQP01-Low	10 <sup>3</sup>	3,000	2/2	3,060
CMVMQP01-Negative	negativo	-	0/2	-

Todas las muestras positivas han sido detectadas correctamente con un título incluido en el intervalo de ± 0.5 Log definido para el valor.

Otras pruebas se realizaron utilizando como material de referencia calibrado un panel de diluciones CMV Panel (QCMD 2014 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Qnostics Ltd, Qnostics, Escocia, Reino Unido). Cada muestra del panel fue utilizada en 2 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción, amplificación, detección e interpretación de los resultados con **ELITE InGenius System** y los productos ELITechGroup S.p.A.

BIO-DIAGNOSTICO S.A.  
 LAURA E. MERCAPIDE  
 DIRECTORA TECNICA  
 BIOQUIMICA  
 APODERADA



PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados en UI/mL han sido calculados aplicando el factor de conversión para **ELITE InGenius System** y plasma y se indican en la siguiente tabla.

Los resultados finales para cada matriz se muestran en las siguientes tablas.

Pruebas con material de referencia certificado y ELITE InGenius System				
Muestra	Consensus Log <sub>10</sub> conc. viral	Desviación estándar	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log <sub>10</sub> gEq / mL
CMVDNA14-01	2,468	0,343	2/2	2,256
CMVDNA14-02	3,034	0,281	2/2	2,915
CMVDNA1403	3,383	0,368	2/2	3,185
CMVDNA14-04	3,014	0,251	2/2	2,976
CMVDNA14-05	1,859	0,462	2/2	1,706
CMVDNA14-06	2,767	0,325	2/2	2,526
CMVDNA14-07	4,030	0,280	2/2	3,924
CMVDNA14-08	Negativo	NA	0/2	-
CMVDNA14-09	2,065	0,512	2/2	1,273
CMVDNA14-10	3,947	0,278	2/2	3,946

Conversión a las Unidades Internacionales con ELITE InGenius	
Matriz	Fc (UI / gEq)
<b>sangre entera</b>	<b>0,7</b>
<b>plasma</b>	<b>0,3</b>
<b>líquido cefalorraquídeo</b>	<b>0,3</b>
<b>orina</b>	<b>0,7</b>
<b>tampones bucales</b>	<b>0,2</b>
<b>líquido amniótico</b>	<b>0,2</b>

Todas las muestras del análisis cuantitativo han sido detectadas correctamente. En el análisis cuantitativo, 8/9 muestras positivas han sido cuantificadas dentro del intervalo definido por el Consensus EQA ± 1 desviación estándar. Una muestra (CMVDNA14-09) se cuantificó en un intervalo de ± 2 desviación estándar. Esto puede explicarse por el título de la muestra por debajo del límite inferior de cuantificación.

**Solidez: ausencia de contaminación cruzada**

La solidez de la prueba, como ausencia de contaminación cruzada, ha sido verificada analizando los resultados de cinco sesiones, cuyas muestras negativas para el ADN de CMV fueron alternadas con muestras fuertemente positivas para el ADN de CMV. Ninguna muestra negativa para el ADN de CMV ha resultado positiva.

Otras pruebas se realizaron utilizando como material de referencia calibrado «AcroMetrix® CMV<sub>ic</sub> Panel» (Acrometrix, Life Technologies; EE.UU.) Cada muestra del panel fue utilizada en duplicado para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción, amplificación, detección e interpretación de los resultados con **ELITE InGenius System** y los productos ELITechGroup S.p.A.

La ausencia de contaminación cruzada ha sido verificada utilizando una muestra de sangre entera negativa para el ADN de CMV positivizada con material de referencia calibrado aprobado por la OMS ("1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques", NIBSC code 09/162, Reino Unido) con una carga viral de 10.000 UI / mL y una muestra de sangre entera negativa para el ADN de CMV. Se han utilizado cinco series de 12 muestras, alternando una muestra positivizada con una muestra negativa, para ejecutar todo el procedimiento de análisis, extracción, amplificación, detección e interpretación de los resultados con el **ELITE InGenius** y los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se indican en la siguiente tabla.

Los resultados en UI / ml se determinaron mediante la aplicación del factor de conversión para el sistema y el plasma Elite InGenius™ y se dan en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de CMV	30	30	0
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	30	0	30

**Solidez: tasa global de error del sistema**

La solidez de la prueba, como tasa global de error del sistema que lleva a resultados falsos negativos, ha sido verificada realizando el análisis de un panel de muestras positivas para el ADN de CMV con bajo título, resultando menor al 1,7%.

La tasa global de error ha sido verificada utilizando un panel de muestras de sangre entera negativa para el ADN de CMV positivizada con el material de referencia calibrado y certificado CMVDNA12-01, una muestra del "QCMD 2012 Human Cytomegalovirus EQA Panel" (Qnostics, Reino Unido)", a una carga viral de 750 UI / mL. Cada muestra fue utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción, amplificación, detección e interpretación de los resultados con **ELITE InGenius** y los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Campioni	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de CMV	60	59	1

Pruebas con material de referencia certificado y ELITE InGenius System				
Muestra	Título nominal UI / mL	Título nominal Log <sub>10</sub>	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log <sub>10</sub> UI / mL
CMV DNA 3E6	3.000.000	6,477	2/2	6,386
CMV DNA 3E5	300.000	5,477	2/2	5,444
CMV DNA 3E4	30.000	4,477	2/2	4,473
CMV DNA 3E3	3.000	3,477	2/2	3,441
CMV DNA 3E2	300	2,477	2/2	2,575

Todas las muestras se identificaron correctamente como positivos con un título incluido en el intervalo de ± 0.5 Log definido para el valor.

**Sensibilidad analítica: Factor de conversión en Unidades Internacionales**

El factor de conversión que se utilizará con este ensayo para transformar el resultado cuantitativo de gEq / ml en unidades internacionales / ml se determinó utilizando un panel de material de referencia calibrado aprobado por la OMS ("1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid" Técnicas de amplificación", NIBSC, Reino Unido, código 09/162) en las diferentes matrices negativas para ADN de CMV y en asociación con **ELITE InGenius**. El panel tenía al menos 3 pasos de dilución de 1 Log. Cada punto del panel se probó en al menos 10 réplicas realizando todo el procedimiento de análisis, preparación del trazo, extracción, amplificación en tiempo real e interpretación de los resultados con **ELITE InGenius** y ELITechGroup S.p.A.



**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**Sensibilidad de diagnóstico: confirmación de muestras positivas**

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, confirmada por muestras clínicas positivas, se evaluó utilizando muestras clínicas positivas para ADN de CMV.

Se realizaron análisis de sangre entera en 60 muestras de sangre completa recogidas en EDTA positivo para ADN de CMV (probado con un producto CE IVD de amplificación en tiempo real).

Se realizaron pruebas de plasma en 54 muestras de plasma recogidas en EDTA de pacientes con ADN positivo para CMV (evaluadas con un producto CE IVD de amplificación en tiempo real).

Las pruebas con el líquido cefalorraquídeo se realizaron en 20 de muestras líquidas cefalorraquídeo negativas para CMV ADN, que fueron positiva para el ADN de CMV mediante la adición de "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC, UK, código 09/162).

Se realizaron pruebas de orina en 31 muestras de orina de pacientes que dieron positivo en el ADN del CMV (probado con un producto de amplificación en tiempo real CE IVD).

Las pruebas con tampones bucales se realizaron en 50 muestras de tampones bucales negativos para ADN de CMV, que fueron positiva para el ADN de CMV mediante la adición de "Norma Internacional primera OMS para citomegalovirus humano para Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos" (NIBSC, UK, código 09/162).

Las pruebas con el líquido amniótico se realizaron en 11 de las muestras de líquido amniótico de los pacientes positivos para ADN de CMV (probado con un producto de amplificación en tiempo real CE IVD) y amniótico de 20 muestras de líquido negativo para CMV ADN, que son se ha positivizado para ADN de CMV añadiendo "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC, UK, código 09/162).

Cada muestra se usó para realizar todo el análisis, extracción, amplificación, detección e interpretación de los resultados con **ELITE InGenius** y ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de CMV	60	60	0
Plasma recolectada en EDTA positiva para el ADN de CMV	54	54	0
Líquido cefalorraquídeo positivizado para el ADN de CMV	20	20	0
Orina positiva para el ADN de CMV	31	31	0
Tampones bucales positivizados para el ADN de CMV	50	50	0
Líquido amniótico positivo o positivizado para el ADN de CMV	31	31	0

Todas las muestras fueron confirmadas positivas.

La sensibilidad diagnóstica del ensayo en estas pruebas fue igual al 100%.

**Sensibilidad de diagnóstico: confirmación de muestras negativas**

La especificidad diagnóstica del ensayo, como confirmación de muestras negativas, se evaluó utilizando algunas muestras clínicas negativas para ADN de CMV.

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando 59 muestras de sangre total recogidas en EDTA, negativas para ADN de CMV (probadas con un producto CE IVD de amplificación en tiempo real).

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando 58 muestras de plasma recogidas en EDTA, negativas para ADN de CMV (evaluadas con un producto CE IVD de amplificación en tiempo real).

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando 17 muestras de líquido cefalorraquídeo, negativas para ADN de CMV (evaluadas con un producto de amplificación en tiempo real CE IVD) y 3 muestras de líquido cefalorraquídeo, presumiblemente negativas para ADN de CMV.

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando 8 muestras de orina, negativas para el ADN del CMV (evaluadas con un producto de amplificación de IVD CE en tiempo real) y 46 muestras de orina, que se presumieron negativas para el ADN del CMV.

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando 52 tampones bucales, presumiblemente negativos para el ADN del CMV.

La especificidad diagnóstica se evaluó usando 10 de las muestras de líquido amniótico, negativos para ADN de CMV (probado con un producto de amplificación en tiempo real CE IVD) y 22 muestras de líquido amniótico, presuntos negativo para ADN de CMV.

Cada muestra se usó para realizar todo el análisis, extracción, amplificación, detección e interpretación de los resultados con **ELITE InGenius** y ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	59	4	55
Plasma recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	58	1	57
Líquido cefalorraquídeo negativo o presuntivo negativo para el ADN de CMV	20	0	20
Orina negativa o presuntivo negativa para el ADN de CMV	54	0	54
Tampones bucales negativos o presuntivo negativos para el ADN de CMV	52	2	50
Líquido amniótico o negativo o presuntivo negativo para el ADN de CMV	32	0	32

Cincuenta y cinco (55) de las 59 muestras de sangre total se confirmaron negativas para el ADN del CMV, mientras que cuatro muestras fueron discrepantes con resultados positivos bajos. Este resultado puede explicarse por el límite de detección del método de referencia que es superior al límite de detección del producto afectado.

La especificidad diagnóstica del ensayo en asociación con la matriz de sangre total en esta prueba fue igual al 93%.

Cincuenta y siete (57) muestras de 58 se confirmaron negativas, mientras que una muestra fue discrepante positiva baja positiva.

La especificidad diagnóstica del ensayo en asociación con la matriz plasmática en esta prueba fue igual al 98%.

Cincuenta (50) de 52 muestras de hisopos bucales se confirmaron negativos para el ADN del CMV, mientras que dos muestras fueron positivas discrepantes con títulos bajos.

La especificidad diagnóstica del ensayo en asociación con la matriz del tampón bucal en esta prueba fue igual al 96%.

Todas las muestras de líquido amniótico, orina y líquido cefalorraquídeo se confirmaron negativas.

La especificidad diagnóstica del ensayo en asociación con la matriz líquida amniótica, la orina y el líquido cefalorachidiano fue igual al 100%

La especificidad diagnóstica del ensayo fue igual al 97%.

**Solidez: resultados no válidos con muestras clínicas**

La solidez del ensayo, como una evaluación de los resultados no válidos con muestras clínicas en el primer análisis, se verificó mediante el análisis de muestras clínicas de diferentes matrices.

El número de muestras no válidas se verificó usando los resultados en muestras clínicas negativas y positivas para ADN de CMV analizadas con ELITE InGenius y ELITechGroup S.p.A. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestras	N	No válidos	%
sangre entera	129	2	1.6
plasma	112	0	0
líquido cefalorraquídeo	40	0	0
orina	87	0	0
tampones bucales	106	0	0
líquido amniótico	63	0	0



BIODIAGNOSTICO S.A. LAURA E. MERGAPIDE DIRECTORA TECNICA BIOQUIMICA APODERADA

## PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

### OTROS SISTEMAS

### MUESTRAS Y CONTROLES

#### Muestras

Este producto debe ser utilizado con **ADN extraído** de las siguientes muestras clínicas:

Sangre entera recolectada con EDTA

Las muestras de sangre entera destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectadas con EDTA según las indicaciones del laboratorio, transportadas a +2° / +8 °C y conservadas a +2° / +8 °C por un máximo de tres días, de lo contrario deben ser congeladas y conservadas a -20 °C por un máximo de treinta días o bien a -70°C por tiempos más prolongados. Se aconseja subdividir en diferentes alícuotas las muestras que deben conservarse congeladas para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación. Cuando se utilizan muestras congeladas, para evitar la posible degradación de los ácidos nucleicos descongelarlas inmediatamente antes de la extracción.

**Nota:** cuando se realiza la extracción del ADN de sangre entera (muestra celular) con el kit «**EXTRABlood**» se deben respetar las indicaciones del Manual de instrucciones de uso: partir con **200 µL** de muestra, agregar **5µL** de **CPE** para el control interno al iniciar la extracción, recuperar el ADN con **100 µL** de tampón de elución.

**Nota:** cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de sangre entera usando **ELITE STAR System**, con **versión de software 3.4.13** (o versiones posteriores equivalentes), utilizar el protocolo de extracción "**UUNI\_E100\_S200\_ELI**", que emplea 200 µL de muestra y eluye el producto de la extracción en 100 µL (la elución se realiza en 115 µL efectivos, de los cuales se recuperan 100 µL). Las muestras en las probetas primarias pueden cargarse directamente en el «**ELITE STAR**». Es necesario siempre un volumen mínimo de 600 µL para cada muestra según la clase de tubo utilizado. Agregar **200 µL** de **CPE** en los tubos de Proteinase-Carrier, como se indica en el manual del kit de extracción. Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

**Nota:** cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de sangre entera usando **ELITE GALAXY System**, con **versión de software 1.3.1** (o versiones posteriores equivalentes), utilizar el protocolo de extracción **xNA Extraction (Universal)**, que emplea 300 µL de muestra y eluye el producto de la extracción en 200 µL (la elución se realiza en 210 µL efectivos, de los cuales se recuperan 200 µL). Las muestras en las probetas primarias pueden cargarse directamente en «**ELITE GALAXY**». Es necesario siempre para cada muestra un volumen mínimo de 400-650 µL según la clase de tubo utilizado. Agregar **10 µL / muestra** de **CPE**. (Al CPE debe agregarse el **IC + Carrier solution**, como se indica en el manual del kit de extracción). Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

**Nota:** Cuando se ejecuta la extracción del ADN de muestras de sangre entera con el equipo «**NucliSENS® easyMAG®**» utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** y respetar las siguientes indicaciones: distribuir **100 µL** de la muestra en la Strip de 8 pocillos; cargar la Strip en el equipo e iniciar la extracción sin incubación para la lisis; después que el equipo ha agregado el **EasyMAG® Lysis Buffer**, mezclar (directamente en el equipo) tres veces el contenido de la Strip con la pipeta multicanal suministrada usando el programa 3; dejar en incubación por 10 minutos y luego agregar la **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** al contenido de la Strip con la pipeta multicanal usando el programa 3, continuar con la extracción y recuperar el ADN con **50 µL** de tampón de elución.

**Nota:** cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de sangre entera usando el instrumento «**QIASymphony® SP/AS**» y el kit «**QIASymphony® DNA Mini Kit**», con **versión de software 3.5**, utilizar el protocolo de extracción "**Virus Blood\_200\_V4\_default IC**" y seguir estas indicaciones: el instrumento tiene la capacidad de utilizar directamente el tubo primario, el volumen de muestra retirado para la extracción es de **200 µL**, se requiere siempre un volumen muerto mínimo de 100 µL. Cargar en el equipo, en la posición prevista para las probetas "control interno" las probetas que contienen buffer ATE, como se indica en el Manual de instrucciones de uso del kit; indicar la posición en la cual se distribuirán los eluatos y especificar el volumen de elución de **60 µL** (la elución se realiza en 90 µL efectivos, de los cuales se recuperan 60 µL). Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

Plasma extraído con EDTA

Las muestras de plasma destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectada con EDTA según las indicaciones del laboratorio, transportadas a +2° / +8 °C y conservadas a +2° / +8 °C por un máximo de tres días, de lo contrario deben ser congeladas y conservadas a -20 °C por un máximo de treinta días o bien a -70 °C por tiempos más prolongados.

Se aconseja subdividir en varias alícuotas las muestras que se deben conservar congeladas, para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación.

Cuando se utilizan muestras congeladas, descongelarlas inmediatamente antes de la extracción para evitar la posible degradación de los ácidos nucleicos.

**Nota:** cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de plasma usando **ELITE STAR System**, con **versión de software 3.4.13** (o versiones posteriores equivalentes), utilizar el protocolo de extracción "**UUNI\_E100\_S200\_ELI**", que emplea 200 µL de muestra y eluye el producto de la extracción en 100 µL (la elución se realiza en 115 µL efectivos, de los cuales se recuperan 100 µL). Las muestras en las probetas primarias pueden cargarse directamente en el «**ELITE STAR**». Es necesario siempre un volumen mínimo de 600 µL para cada muestra según la clase de tubo utilizado. Agregar **200 µL** de **CPE** en los tubos de Proteinase-Carrier, como se indica en el manual del kit de extracción. Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

**Nota:** cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de plasma usando **ELITE GALAXY System**, con **versión de software 1.3.1** (o versiones posteriores equivalentes), utilizar el protocolo de extracción **xNA Extraction (Universal)**, que emplea 300 µL de muestra y eluye el producto de la extracción en 200 µL (la elución se realiza en 210 µL efectivos, de los cuales se recuperan 200 µL). Las muestras en las probetas primarias pueden cargarse directamente en el «**ELITE GALAXY**». Para cada muestra es necesario siempre un volumen mínimo de 400-650 µL según la clase de tubo utilizado. Agregar **10 µL / muestra** de **CPE**. (Al CPE debe agregarse el **IC + Carrier solution**, como se indica en el manual del kit de extracción). Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

**Nota:** cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de plasma usando el instrumento «**QIASymphony® SP/AS**» y el kit «**QIASymphony® DSP Virus / Pathogen Midi kit**», con **versión de software 3.5**, utilizar el protocolo de extracción "**Virus Cell free 500\_V3\_DSP\_default IC**" y seguir estas indicaciones: el instrumento tiene la capacidad de utilizar directamente el tubo primario, el volumen de muestra retirado para la extracción es de **500 µL**, siempre se requiere un volumen muerto mínimo de 100 µL. Preparar la solución que contiene el buffer AVE y el carrier ARN según las instrucciones del Manual de uso del kit de extracción. Agregar a la solución **6 µL** de **CPE** para cada muestra requerida. Cargar en el instrumento, en la posición prevista para las probetas "control interno", las probetas que contienen la solución, como se indica en el Manual de instrucciones de uso del kit; indicar la posición en la cual se distribuirán los eluatos y especificar el volumen de elución de **85 µL** (la elución se realiza en 115 µL efectivos, de los cuales se recuperan 85 µL). Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

Líquido cefalorraquídeo

Las muestras de líquido cefalorraquídeo destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectadas según las indicaciones del laboratorio evitando la contaminación con la sangre del paciente, transportadas a +2°/+8 °C y conservadas a +2°/+8 °C por un máximo de cuatro horas, de lo contrario deben congelarse y conservarse a -20 °C por un máximo de treinta días o bien a -70°C por tiempos más prolongados.

Se aconseja dividir en diferentes alícuotas las muestras para conservarlas congeladas y no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación.

**Nota:** Cuando se ejecuta la extracción del ADN a partir de muestras de líquido cefalorraquídeo con el equipo «**NucliSENS® easyMAG®**» utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** y respetar las siguientes indicaciones: distribuir **500 µL** de la muestra en la Strip de 8 pocillos; cargar la Strip en el equipo e iniciar la extracción. Después de los 10 minutos de incubación agregar **5 µL** de **CPE** para el control interno antes de agregar la **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** al contenido de la Strip con la pipeta multicanal usando el programa 3; continuar con la extracción y recuperar el ADN con **100 µL** de tampón de elución.





PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Ciclo térmico		
Fase	Temperaturas	Tiempos
Descontaminación	50 °C	2 min.
Desnaturalización inicial	94 °C	2 min.
Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 seg.
	60°C <sup>2</sup> (adquisición de la fluorescencia)	30 seg.
	72 °C	20 seg.
Disociación(opcional)	95 °C	15 seg.
	40 °C	30 seg.
	80 °C	15 seg.
	60 °C	15 seg.

Si se utiliza un equipo **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**:

Antes de iniciar la sesión, tomando como referencia la documentación del equipo, es necesario:  
 - encender el thermal cycler para real time, encender el computador de control, iniciar el software destinado y abrir una sesión "absolute quantification" y programar "Run mode: Fast 7500";  
 - programar (Detector Manager) el "detector" para la sonda para CMV con el "reporter" = "FAM" y el "quencher" = "none" (no fluorescente) y denominarlo "CMV";  
 - programar (Detector Manager) el "detector" para la sonda de control interno con el "reporter" = "VIC" (AP525 equivalente al VIC) y el "quencher" = "none" (no fluorescente) y denominarlo "CI";  
 - para cada pocillo en uso de la microplaca, programar (Well Inspector) los "detector" (tipo de fluorescencia a medir), el "passive reference" = "CY5" (se usa AP593 en lugar del CY5, normalización de la fluorescencia medida) normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, control negativo de amplificación, control positivo de amplificación o estándar con la correspondiente cantidad conocida). 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.

En la sección anterior, relativa al procedimiento para el equipo **7300 Real Time PCR System**, se describe un ejemplo de la modalidad de organización de un análisis cuantitativo de algunas muestras.

Con referencia a la documentación del instrumento, programar en el software específico (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile), los parámetros del **ciclo térmico**:

- agregar, en la fase de amplificación, el paso (Add Step) de **extensión a 72°C**;

**Nota:** la adquisición de la fluorescencia (Instruments > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection) debe permanecer programada en el paso de hibridación a 60°C.

- modificar los tiempos, como se indica en la siguiente tabla;
- programar un número de **45** ciclos;
- programar el valor de volumen para la simulación software de la transferencia térmica en la reacción ("Sample volume") a **30 µL**;
- opcional: agregar la fase de disociación (Add Dissociation Stage) y programar la temperatura en un rango de **40 °C a 80 °C**.

Ciclo térmico		
Fase	Temperaturas	Tiempos
Descontaminación	50 °C	2 min.
Desnaturalización inicial	94 °C	2 min.
Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 seg.
	60°C <sup>2</sup> (adquisición de la fluorescencia)	30 seg.
	72 °C	20 seg.
Disociación(opcional)	95 °C	15 seg.
	40 °C	1 min.
	80 °C	15 seg.
	60 °C	15 seg.

**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. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer y descongelar las probetas **CMV Q - PCR Mix** necesarias para la sesión teniendo presente que el contenido de cada una es suficiente para preparar **25 reacciones**. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer y descongelar las probetas de **CMV Q - PCR Standard**. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer la **Amplification microplate** que será utilizada en la sesión, prestando atención de manejarla con guantes sin polvo y de no dañar los pocillos.

1. Transferir, depositándolos cuidadosamente en el fondo **sin crear burbujas**, **20 µL** de mezcla de reacción **CMV Q - PCR MIX** en los pocillos de la **Amplification microplate** 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 -20°C por un máximo de un mes. Congelar y descongelar la mezcla de reacción por un máximo de **3 VECES**.

2. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, **20 µL** de **ADN extraído** de la primera muestra en el correspondiente pocillo de la **Amplification microplate** como fue establecido previamente en el **Plan de trabajo**. Mezclar bien la muestra pipeteando tres veces el volumen de 20 µL en la mezcla de reacción. Prestar atención a no crear burbujas. Proceder del mismo modo con todos los otros **ADN extraídos**.

3. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, **20 µL** de **Agua bidestilada estéril** (no provista en el producto) en el pocillo de la **Amplification microplate** de control negativo de amplificación como fue establecido previamente en el **Plan de trabajo**. Mezclar bien el control negativo pipeteando tres veces el agua bidestilada estéril en la mezcla de reacción. Prestar atención a no crear burbujas.

4. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, **20 µL** de **CMV - PCR Standard 10<sup>2</sup>** en el pocillo correspondiente de la **Amplification microplate** como fue establecido previamente en el **Plan de trabajo**. Mezclar bien el estándar pipeteando tres veces el **CMV Q - PCR Standard 10<sup>2</sup>** en la mezcla de reacción. Prestar atención a no crear burbujas. Proceder de igual manera con los **CMV Q - PCR Standard 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>**.

5. Sellar cuidadosamente la **Amplification microplate** con la **Amplification Sealing Sheet**.

6. Transferir la **Amplification microplate** 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, guardando la programación de la sesión con una identificación unívoca y reconocible (por ej. "año-mes-día-CMV-EGSpA").

**Nota:** Al finalizar el ciclo térmico, se debe quitar la **Amplification microplate** con los productos de reacción del equipo y se debe eliminar para no generar contaminaciones ambientales. **Nunca levantar la Amplification Sealing Sheet de la Amplification microplate** para evitar que se derramen los productos de reacción.

PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

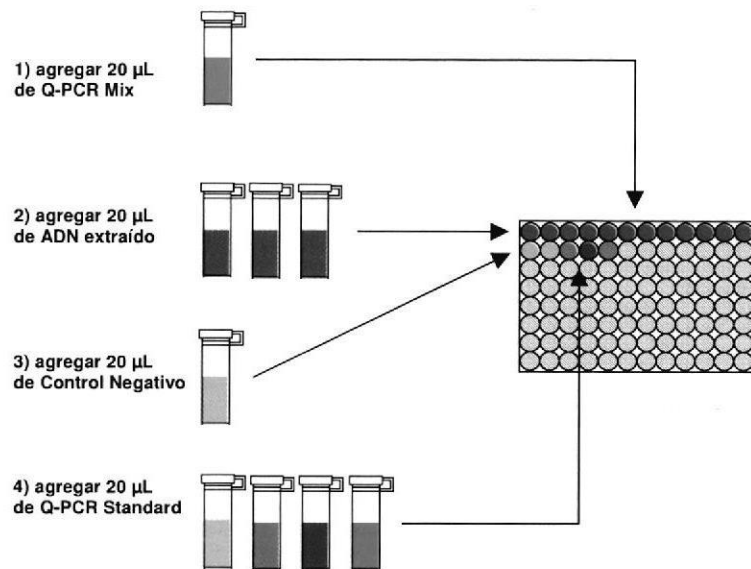
**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

En la siguiente figura se ilustra de manera sintética el procedimiento para la preparación de las reacciones de amplificación.



**Nota:** Si la preparación de la amplificación se realiza mediante el equipo «QIASymphony® SP/AS», introducir la microplaca con los extractos, los reactivos y la microplaca de amplificación en los alojamientos específicos, usando los adaptadores, luego respetar lo previsto en el manual de uso del preparador automático y los pasos requeridos por el software.

**Análisis cualitativo de los resultados**

Los valores registrados de la fluorescencia emitida por la sonda específica para CMV (detector FAM "CMV") y por la sonda específica para el Control Interno (detector VIC "CI") en las reacciones de amplificación deben ser analizados con el software del equipo.

Antes de efectuar el análisis, tomando como referencia la documentación del equipo, es necesario:  
- programar manualmente (Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle) el intervalo de cálculo del **Nivel de fluorescencia de fondo (Baseline)** desde el ciclo 6 al ciclo 15;

**Nota:** En caso de una muestra positiva con alto título de CMV, la fluorescencia FAM de la sonda específica para CMV puede comenzar a crecer antes del 15º ciclo. En este caso el intervalo de cálculo del **Nivel de fluorescencia de fondo** debe ser adaptado desde el ciclo 6 al ciclo en el cual la fluorescencia FAM comienza a crecer (Results > Component).

Si se utiliza un equipo **7300 Real-Time PCR System:**

- programar manualmente el Umbral (Threshold) para el detector FAM "CMV" en 0,1;
- programar manualmente el Umbral (Threshold) para el detector VIC "CI" en 0,05.

Si se utiliza un equipo **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument:**

- programar manualmente el Umbral (Threshold) para el detector FAM "CMV" en 0,2;
- programar manualmente el Umbral (Threshold) para el detector VIC "CI" en 0,1.

Los valores de fluorescencia emitidos por las sondas específicas en la reacción de amplificación y el valor **Umbral** de fluorescencia se utilizan para determinar el **Ciclo Umbral (Ct, Threshold cycle)**, el ciclo en el cual se ha alcanzado el valor **Umbral** de fluorescencia.

Los valores de **Ct** para CMV en las reacciones de amplificación de los cuatro **Q - PCR Standard** se utilizan para calcular la **Curva estándar** (Results > Standard Curve) de la sesión de amplificación y para confirmar la amplificación y la detección como se describe en la siguiente tabla:

Reacción Q - PCR Standard 10 <sup>5</sup> detector FAM "CMV"	Resultado de la prueba	Amplificación / Detección
Ct ≤ 25	POSITIVO	CORRECTA

Curva estándar detector FAM "CMV"	Intervalo de aceptación	Amplificación / Detección
Coefficiente de Correlación (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación des **Q - PCR Standard 10<sup>5</sup>** es **Ct > 25** o **Ct No determinado (Undetermined)** o si el valor del **Coefficiente de correlación (R2)** no está contenido dentro de los límites, no ha sido detectada correctamente la presencia de ADN blanco. Se han verificado problemas en la fase de amplificación o en la de detección (dispensación incorrecta de la mezcla de reacción o del control positivo, degradación de la mezcla de reacción o 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.

En la reacción de amplificación del **Control negativo**, el valor de **Ct** para CMV (Results > Report) se utiliza para confirmar la amplificación y la detección como se describe en la siguiente tabla:

Reacción Control negativo detector FAM "CMV"	Resultado de la prueba	Amplificación / Detección
Ct No determinado	NEGATIVO	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación del **Control negativo** es distinto de **Ct No determinado (Undetermined)** para CMV, 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.

En las reacciones de amplificación de cada **muestra**, el valor de **Ct** para CMV se utiliza para detectar la presencia de ADN blanco, mientras que el valor de **Ct** para el Control Interno se utiliza para confirmar la extracción, amplificación y detección.

**Nota:** Verificar con el software del equipo (Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle) que el **Ct** sea determinado por un aumento rápido y regular de los valores de fluorescencia y no por fenómenos de pico o aumento gradual de la señal de fondo (fondo irregular o alto).

Este producto tiene la capacidad de detectar una cantidad mínima de aproximadamente 11 genomas Equivalentes por reacción, 279 genomas Equivalentes por mL de sangre entera, usando el kit de extracción «**EXTRAblood**» (véanse las Características de las prestaciones).





PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados como Ct de las reacciones de amplificación de cada muestra (Results > Report) son utilizados como se describe en la siguiente tabla:

Reacción muestra		Idoneidad de la muestra	Resultado de la prueba	ADN de CMV
detector FAM "CMV"	detector VIC "CI"			
Ct No determinado	Ct > 35 o Ct No determinado	no idónea	no válido	-
	Ct ≤ 35	idónea	válido, negativo	NO DETECTADO
Ct Determinado	Ct > 35 o Ct No determinado	idónea	válido, positivo	DETECTADO
	Ct ≤ 35	idónea	válido, positivo	DETECTADO

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es Ct No determinado para CMV y Ct > 35 o Ct No determinado para el Control Interno, no ha sido posible detectar de manera eficiente el ADN del Control Interno. En este caso, se han verificado problemas durante la fase de amplificación (amplificación no eficiente o nula) o durante la fase de extracción (degradación del ADN de la muestra, muestra con un número de células insuficiente, pérdidas del ADN durante la extracción o presencia de inhibidores en la extracción) 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 Ct No determinado para CMV y Ct ≤ 35 para el Control Interno, el ADN de CMV no ha sido detectado en el ADN extraído de la muestra, pero no se puede excluir que el ADN de CMV esté presente con un título inferior al límite de detección del producto (ver apartado sobre las Características de las prestaciones). En este caso el resultado sería un falso negativo.

Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados considerando todos los datos clínicos y los resultados de los 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 CMV, la amplificación del Control Interno puede dar como resultado un Ct > 35 o Ct No determinado. En efecto, la reacción de amplificación de baja eficiencia del Control Interno puede ser anulada por competición de la reacción de amplificación de alta eficiencia de CMV. En este caso, la muestra es apta de todas maneras y el resultado positivo de la prueba es válido.

**Análisis cuantitativo de los resultados**

Después de realizar el procedimiento para el análisis cualitativo de los resultados se puede hacer el análisis cuantitativo de los resultados correspondientes a las muestras positivas.

Los valores de Ct para CMV en las reacciones de amplificación de cada muestra y la Curva estándar (Standard Curve) (Results > Standard Curve) de la sesión de amplificación son utilizados para calcular la Cantidad (Quantity) de ADN blanco presente en las reacciones de amplificación correspondientes a las muestras.

Este producto tiene la capacidad de cuantificar desde 1.000.000 a aproximadamente 13 genomas Equivalentes por reacción, de 25.000.000 a 316 genomas Equivalentes por mL de sangre entera, usando el kit de extracción «EXTRAblood» (véanse las Características de las prestaciones en la página 20), como se describe en la siguiente tabla:

Resultado de la muestra detector FAM "CMV"	genomas Equivalentes de CMV por reacción
Cantidad > 1 x 10 <sup>6</sup>	SUPERIORES A 1.000.000
1,3 x 10 <sup>1</sup> ≤ Cantidad ≤ 1 x 10 <sup>6</sup>	= Cantidad
Cantidad < 1,3 x 10 <sup>1</sup>	INFERIORES A 13

Los resultados (Cantidad) de cada muestra (Results > Report) son utilizados para calcular los genomas Equivalentes (gEq) de CMV presentes en la muestra de partida (Nc) según esta fórmula:

$$Nc = \frac{Ve \times Cantidad}{Vc \times Va \times Ep}$$

Donde:

Vc es el volumen de la muestra usado en la extracción en relación con la unidad de medida requerida;  
Ep es la eficiencia del procedimiento, extracción y amplificación, expresada en decimales;  
Ve es el volumen total obtenido de la extracción expresado en µL;  
Va es el volumen del producto de extracción usado en la reacción de amplificación expresado en µL;  
Cantidad es el resultado de la reacción de amplificación correspondiente a la muestra expresado en gEq por reacción.

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada con EDTA y el kit de extracción «EXTRAblood» y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

**Fórmula simplificada para sangre entera y «EXTRAblood»**

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 25 \times \text{Cantidad}$$

Cuando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción ELITE STAR System y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

**Fórmula simplificada para plasma y «ELITE STAR System»**

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 28 \times \text{Cantidad}$$

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada con EDTA y el sistema de extracción ELITE GALAXY System y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

**Fórmula simplificada para sangre entera y «ELITE GALAXY System»**

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 35 \times \text{Cantidad}$$

Cuando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción ELITE GALAXY System y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

**Fórmula simplificada para plasma y «ELITE GALAXY System»**

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 35 \times \text{Cantidad}$$

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada con EDTA y el sistema de extracción «NucliSENS® easyMAG®» y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

**Fórmula simplificada para sangre entera y «NucliSENS® easyMAG®»**

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 50 \times \text{Cantidad}$$

Cuando se utilizan muestras de líquido cefalorraquídeo y de orina y el sistema de extracción «NucliSENS® easyMAG®» y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

**Fórmula simplificada para líquido cefalorraquídeo y orina y «NucliSENS® easyMAG®»**

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 10 \times \text{Cantidad}$$

PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada con EDTA y el sistema de extracción «QIASymphony® SP/AS», y se desea obtener el resultado **expresado en gEq / mL**, la fórmula es:

<b>Fórmula simplificada para sangre entera y «QIASymphony® SP/AS»</b>
$Nc \text{ (gEq / mL)} = 24 \times \text{Cantidad}$

Cuando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción «QIASymphony® SP/AS», y se desea obtener el resultado **expresado en gEq / mL**, la fórmula es:

<b>Fórmula simplificada para plasma y «QIASymphony® SP/AS»</b>
$Nc \text{ (gEq / mL)} = 12 \times \text{Cantidad}$

**Conversión de los resultados en las Unidades Internacionales**

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el kit de extracción «EXTRAblood» y se desea obtener el resultado **expresado en UI / mL**, la fórmula es:

<b>Fórmula simplificada para sangre entera y «EXTRAblood»</b>
$Fc = 0,76 \text{ UI / gEq}$
$Nc \text{ (UI / mL)} = Nc \text{ (gEq / mL)} \times Fc$
$Nc \text{ (UI / mL)} = 19 \times \text{Cantidad}$

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el kit de extracción «ELITE STAR System» y se desea obtener el resultado **expresado en UI / mL**, la fórmula es:

<b>Fórmula simplificada para sangre entera y ELITE STAR System</b>
$Fc = 0,79 \text{ UI / gEq}$
$Nc \text{ (UI / mL)} = Nc \text{ (gEq / mL)} \times Fc$
$Nc \text{ (UI / mL)} = 22,1 \times \text{Cantidad}$

Cuando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción «ELITE STAR System» y se desea obtener el resultado **expresado en UI / mL**, la fórmula es:

<b>Fórmula simplificada para plasma y «ELITE STAR System»</b>
$Fc = 1,10 \text{ UI / gEq}$
$Nc \text{ (UI / mL)} = Nc \text{ (gEq / mL)} \times Fc$
$Nc \text{ (UI / mL)} = 30,8 \times \text{Cantidad}$

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el sistema de extracción «ELITE GALAXY System» y se desea obtener el resultado **expresado en UI / mL**, la fórmula es:

<b>Fórmula simplificada para sangre entera y «ELITE GALAXY System»</b>
$Fc = 0,51 \text{ UI / gEq}$
$Nc \text{ (UI / mL)} = Nc \text{ (gEq / mL)} \times Fc$
$Nc \text{ (UI / mL)} = 17,9 \times \text{Cantidad}$

Cuando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción «ELITE GALAXY System» y se desea obtener el resultado **expresado en UI / mL**, la fórmula es:

<b>Fórmula simplificada para plasma y «ELITE GALAXY System»</b>
$Fc = 0,27 \text{ UI / gEq}$
$Nc \text{ (UI / mL)} = Nc \text{ (gEq / mL)} \times Fc$
$Nc \text{ (UI / mL)} = 9,5 \times \text{Cantidad}$

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el sistema de extracción «NucliSENS® easyMAG®» y se desea obtener el resultado **expresado en UI / mL**, la fórmula es:

<b>Fórmula simplificada para sangre entera y «NucliSENS® easyMAG®»</b>
$Fc = 0,61 \text{ UI / gEq}$
$Nc \text{ (UI / mL)} = Nc \text{ (gEq / mL)} \times Fc$
$Nc \text{ (UI / mL)} = 30,5 \times \text{Cantidad}$

Cuando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el sistema de extracción «QIASymphony® SP/AS» y se desea obtener el resultado **expresado en UI / mL**, la fórmula es:

<b>Límites del intervalo de medición lineal con «QIASymphony® SP/AS»</b>
$Fc = 0,46 \text{ UI / gEq}$
$Nc \text{ (UI / mL)} = Nc \text{ (gEq / mL)} \times Fc$
$Nc \text{ (UI / mL)} = 11 \times \text{Cantidad}$

Cuando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción «QIASymphony® SP/AS» y se desea obtener el resultado **expresado en UI / mL**, la fórmula es:

<b>Límites del intervalo de medición lineal con «QIASymphony® SP/AS»</b>
$Fc = 0,87 \text{ UI / gEq}$
$Nc \text{ (UI / mL)} = Nc \text{ (gEq / mL)} \times Fc$
$Nc \text{ (UI / mL)} = 10 \times \text{Cantidad}$

Donde: **Fc** es el factor de conversión establecido utilizando el material de referencia calibrado aprobado por la OMS "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus DNA for Nucleic Acid Amplification (NAT) Techniques", NIBSC, Reino Unido, código 09/162 (véanse las Características de las prestaciones).

BIODIAGNOSTIC S.A.  
 LAURA E. MERCAPIDE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 BIOQUÍMICA  
 APODERADA



PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES**

**Sensibilidad analítica: límite de detección**

La sensibilidad analítica de esta prueba, como límite de detección, permite detectar la presencia de aproximadamente 11 genomas Equivalentes en los 20 µL de ADN agregados 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 / 20 µL en ADN genómico humano con un título de 500 ng / 20 µL. Esta muestra fue utilizada en 50 repeticiones para realizar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. 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

La sensibilidad analítica de la prueba ha sido verificada utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite utilizando muestras de sangre entera y «EXTRAblood». El panel ha sido preparado utilizando muestras de sangre entera negativa para el ADN de CMV positizadas con el material de referencia calibrado y certificado OptiQuant CMV DNA (cepa AD169, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos) con una concentración de 3.160 gEq / mL a 1 gEq / mL. Cada muestra del panel ha sido utilizada en 24 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha llevado a cabo con la regresión Probit. El límite de detección se ha definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%. Los resultados se presentan en las siguientes tablas.

Límite de detección con muestras de sangre entera y «EXTRAblood» (gEq / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	279 gEq / mL	198 gEq / mL	466 gEq / mL

Límite de detección con muestras de sangre entera y «EXTRAblood» (gEq / reacción)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	11,2 gEq / reac.	7,9 gEq / reac.	18,6 gEq / reac.

Las conversiones de gEq / mL a gEq / reacción se han calculado como se indica en la página 31.

La sensibilidad analítica de la prueba se ha verificado utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite junto con muestras de sangre entera y ELITE STAR System. El panel se ha preparado diluyendo el "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC code 09/162, Reino Unido) en sangre entera extraída con EDTA y negativa para el ADN de CMV. Las concentraciones virales variaban de 3,160 UI / mL a 1000 IU / mL. Cada muestra del panel se ha testado en doce repeticiones para llevar a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con sistema de extracción automático ELITE STAR System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha realizado con la regresión Probit. El límite de detección ha sido definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%. Los resultados se presentan en las siguientes tablas.

Límite de detección con muestras de sangre entera y «ELITE STAR System» (UI / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	263 UI / mL	128 UI / mL	1.208 UI / mL

La sensibilidad analítica de la prueba se indica como gEq/mL en la siguiente tabla:

Límite de detección con muestras de sangre entera y «ELITE STAR System» (gEq / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	332 gEq / mL	162 gEq / mL	1.529 gEq / mL

La sensibilidad analítica como Eq/mL para muestras de plasma y ELITE STAR System se calcula aplicando el factor específico de conversión citado en la página 31.

La sensibilidad analítica de la prueba se ha verificado utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite junto con muestras de plasma y ELITE STAR System. El panel se ha preparado diluyendo el "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC code 09/162, Reino Unido) en plasma extraído con EDTA y negativa para el ADN de CMV. Las concentraciones virales variaban de 3,160 UI / mL a 1000 IU / mL. Cada muestra del panel se ha testado en doce repeticiones para llevar a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con sistema de extracción automático ELITE STAR System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha realizado con la regresión Probit. El límite de detección ha sido definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%. Los resultados se presentan en las siguientes tablas.

Límite de detección con muestras de plasma y «ELITE STAR System» (UI / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	222 UI / mL	126 UI / mL	1638 UI / mL

La sensibilidad analítica se indica como gEq/mL en la siguiente tabla:

Límite de detección con muestras de plasma y «ELITE STAR System» (gEq / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	201 gEq / mL	114 gEq / mL	1489 gEq / mL

La sensibilidad analítica como Eq/mL para muestras de plasma y ELITE STAR System se calcula aplicando el factor específico de conversión citado en la página 31.

La sensibilidad analítica de la prueba se ha verificado utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite junto con muestras de sangre entera y ELITE GALAXY System. El panel se ha preparado diluyendo el "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC code 09/162, Reino Unido) en sangre entera recolectada con EDTA y negativa para el ADN de CMV. Las concentraciones virales variaban de 10 UI / mL a 560 IU / mL. Cada muestra del panel se ha testado en doce repeticiones para llevar a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha realizado con la regresión Probit. El límite de detección ha sido definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%.

Los resultados se presentan en las siguientes tablas.

Límite de detección con muestras de sangre entera y «ELITE GALAXY System» (UI / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	127 UI / mL	75 UI / mL	435 UI / mL



PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La sensibilidad analítica se indica como gEq/mL en la siguiente tabla:

Límite de detección con muestras de sangre entera y «ELITE GALAXY System» (gEq / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
<b>95% resultado positivo</b>	<b>249 gEq / mL</b>	147 gEq / mL	853 gEq / mL

La sensibilidad analítica como Eq/mL para muestras de sangre entera y **ELITE GALAXY System** se calcula aplicando el factor específico de conversión citado en la página 31.

La sensibilidad analítica de la prueba se ha verificado utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite junto con muestras de plasma y **ELITE GALAXY System**. El panel se ha preparado diluyendo el "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC code 09/162, Reino Unido) en plasma extraído con EDTA y negativa para el ADN de CMV. Las concentraciones virales variaban de 10 UI / mL a 560 IU / mL. Cada muestra del panel se ha testado en doce repeticiones para llevar a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha realizado con la regresión Probit. El límite de detección ha sido definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Límite de detección con muestras de plasma y «ELITE GALAXY System» (UI / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
<b>95% resultado positivo</b>	<b>140 UI / mL</b>	86 UI / mL	381 UI / mL

La sensibilidad analítica se indica como gEq/mL en la siguiente tabla:

Límite de detección con muestras de plasma y «ELITE GALAXY System» (gEq / mL)			
		Intervalo de fiabilidad del 95%	
		Valor inferior	Valor superior
<b>95% resultado positivo</b>	<b>519 gEq / mL</b>	319 gEq / mL	1411 gEq / mL

La sensibilidad analítica como Eq/mL para muestras de plasma y **ELITE GALAXY System** se calcula aplicando el factor específico de conversión citado en la página 32.

**Sensibilidad analítica: intervalo de medición lineal**

La sensibilidad analítica de esta prueba, como intervalo de medición lineal, permite cuantificar desde aproximadamente 1.000.000 a alrededor de 13 genomas Equivalentes en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de la prueba ha sido evaluada utilizando un panel de diluciones (1 Log<sub>10</sub> entre una dilución y la siguiente) de ADN plasmídico que contiene el producto de amplificación, cuya concentración inicial ha sido medida espectrofotométricamente. Los puntos del panel de 10<sup>7</sup> moléculas por reacción a 10<sup>1</sup> moléculas por reacción han sido utilizados en 9 repeticiones para efectuar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis de los datos obtenidos, realizado con la regresión lineal, ha demostrado que la prueba presenta una respuesta lineal para todos los puntos del panel (coeficiente de correlación lineal superior a 0,99).

El límite inferior del intervalo de medición lineal ha sido fijado en aproximadamente 13 gEq / reacción, porque en las pruebas para el estudio del límite de detección, la dilución en 316 gEq / mL es la última que presenta el 100% de positividad. El límite inferior del intervalo de medición lineal se encuentra dentro de un logaritmo del valor del estándar de amplificación Q - PCR Standard de concentración más baja (10<sup>2</sup> gEq / 20 µL).

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

El límite superior del intervalo de medición lineal ha sido fijado en 10<sup>6</sup> gEq / reacción, dentro de un logaritmo del valor del estándar de amplificación Q - PCR Standard de concentración más alta, (10<sup>5</sup> gEq / 20 µL). Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Intervalo de medición lineal con muestras de sangre entera y «EXTRAblood»		
	Límite inferior	Límite superior
<b>gEq / MI</b>	<b>316</b>	<b>25.000.000</b>
<b>gEq / reacción</b>	<b>12,6</b>	<b>1.000.000</b>

Las conversiones de gEq / mL a gEq / reacción, y viceversa, se han calculado como se indica en la página 19.

**Sensibilidad analítica: Precisión y Exactitud**

La precisión de la prueba, como variabilidad de los resultados obtenidos en una misma sesión de amplificación con distintas repeticiones de una muestra, ha permitido obtener un Coeficiente de Variación porcentual (CV %) promedio de los valores de Ct inferior al 2% dentro del intervalo de 10<sup>6</sup> moléculas a 10<sup>1</sup> moléculas en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La precisión de la prueba, como variabilidad de los resultados obtenidos en una misma sesión de amplificación con distintas repeticiones de una muestra, ha permitido obtener un Coeficiente de Variación porcentual (CV %) promedio de las cantidades medidas de aproximadamente el 21% dentro del intervalo de 10<sup>6</sup> moléculas a 10<sup>1</sup> moléculas en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La exactitud de la prueba, como diferencia entre el promedio de los resultados obtenidos en una misma sesión de amplificación con distintas repeticiones de una muestra y el valor teórico de la concentración de la muestra, ha permitido obtener una inexactitud porcentual promedio de las cantidades medidas de aproximadamente el 20% dentro del intervalo de 10<sup>6</sup> moléculas a 10<sup>1</sup> moléculas en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La precisión y la exactitud han sido determinadas utilizando los datos obtenidos en las pruebas para el estudio del intervalo de medición lineal.

**Sensibilidad analítica: reproducibilidad con panel de material de referencia certificado**

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 un panel de material de referencia certificado.

Las pruebas han sido realizadas utilizando como material de referencia calibrado y certificado un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite (cepa AD169, QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Qnostics Ltd, Escocia, Reino Unido). Cada muestra del panel ha sido utilizada en 2 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción con «EXTRAblood» y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Pruebas con material de referencia calibrado y «EXTRAblood»				
Muestra	Consensus Log <sub>10</sub> conc. viral	Desviación Estándar	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log <sub>10</sub> gEq / mL
CMV09-01	4,368	0,465	2 / 2	4,064
CMV09-02	2,995	0,400	2 / 2	2,984
CMV09-03	2,297	0,583	2 / 2	2,038
CMV09-04	5,407	0,442	2 / 2	5,026
CMV09-05	2,996	0,444	2 / 2	2,902
CMV09-06	3,493	0,421	2 / 2	3,231
CMV09-07	4,379	0,412	2 / 2	4,129
CMV09-08	Negativo	NA	0 / 2	Non detectado
CMV09-09	6,374	0,457	2 / 2	5,943
CMV09-10	2,352	0,542	2 / 2	1,996
CMV09-11	2,407	0,513	2 / 2	2,105
CMV09-12	3,645	0,449	2 / 2	3,539

Todas las muestras han sido detectadas correctamente. Los resultados cuantitativos obtenidos están comprendidos en el intervalo definido por el Consensus de las pruebas comerciales ± 1 Desviación Estándar, como es requerido.

BIODIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TÉCNICA  
BIOQUÍMICA  
APODERADA



PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Se han realizado otras pruebas utilizando material de referencia calibrado, un panel de diluciones de CMV comprendido dentro del límite de concentración (QCMD 2012 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Scotland, Reino Unido). Cada muestra ha sido testada en duplicado para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE STAR System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados en UI / mL, que se citan en la siguiente tabla, se han determinado aplicando el factor de conversión para **ELITE STAR System** y plasma y se resumen en la siguiente tabla.

Pruebas con material de referencia calibrado y <b>ELITE STAR System</b>				
Muestra	Consensus Log <sub>10</sub> conc. viral	Desviación Estándar	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log <sub>10</sub> UI / mL
CMV12-01	4,409	0,349	2/2	4,580
CMV12-02	3,925	0,335	2/2	4,111
CMV12-03	2,297	0,507	1/2	2,423
CMV12-04	2,021	0,617	1/2	2,320
CMV12-05	3,158	0,613	2/2	3,529
CMV12-06	3,448	0,361	2/2	3,594
CMV12-07	3,490	0,377	2/2	3,321
CMV12-08	Negativo	NA	0/2	Non detectado
CMV12-09	3,767	0,374	2/2	3,760
CMV12-10	2,826	0,456	2/2	3,023

Todas las muestras han sido detectadas correctamente. Los resultados cuantitativos obtenidos están comprendidos en el intervalo definido por el Consensus de las pruebas comerciales ± 1 Desviación Estándar, tal como es requerido.

Se han realizado otras pruebas utilizando material de referencia calibrado, un panel de diluciones de CMV comprendido dentro del límite de concentración (QCMD 2012 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Scotland, Reino Unido). Cada muestra ha sido testada en duplicado para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados en UI / mL, que se citan en la siguiente tabla, se han determinado aplicando el factor de conversión para **ELITE GALAXY System** y plasma y se resumen en la siguiente tabla.

Pruebas con material de referencia calibrado y « <b>ELITE GALAXY System</b> »				
Campione	Consensus Log <sub>10</sub> conc. viral	Desviación Estándar	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log <sub>10</sub> gEq / mL
CMV12-01	4,409	0,349	2/2	4,010
CMV12-02	3,925	0,335	2/2	3,484
CMV12-03	2,297	0,507	1/1	1,811
CMV12-04	2,021	0,617	2/2	1,647
CMV12-05	3,158	0,613	2/2	2,511
CMV12-06	3,448	0,361	2/2	3,106
CMV12-07	3,490	0,377	2/2	3,319
CMV12-08	Negativo	NA	0/2	Non detectado
CMV12-09	3,767	0,374	2/2	3,486
CMV12-10	2,826	0,456	2/2	2,593

Se ha excluido una repetición de CMV12-03 del análisis debido a una avería del sistema durante la fase inicial de extracción. En el análisis cualitativo, todas las muestras se han detectado correctamente. En el análisis cuantitativo, 8/9 muestras positivas se han cuantificado correctamente dentro del intervalo de 0,5 log con respecto al título previsto. Las muestras CMV12-01 y CMV12-07 están asociadas. La diferencia entre CMV12-01 (4,579 log) y CMV12-07 (3,888 log) ha resultado igual a 0,691, por lo cual, está comprendida dentro del intervalo previsto. El resultado CMV12-07 se ha considerado válido.

**Sensibilidad analítica: Factor de conversión en las Unidades Internacionales**

El factor de conversión para utilizar con esta prueba para transformar el resultado cuantitativo de gEq / mL a Unidades Internacionales / mL con **muestras de sangre entera** recolectada con EDTA se ha definido como:

0,76 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el kit de extracción manual «**EXTRAblood**»;

0,79 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático **ELITE STAR System**;

0,51 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System**;

0,61 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático «NucliSENS® easyMAG®»;

0,46 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático «QIASymphony® SP/AS®».

El factor de conversión para utilizar con esta prueba para transformar el resultado cuantitativo de gEq / mL en Unidades Internacionales / mL con **muestras de plasma** extraído con EDTA se ha definido como: se ha definido como:

1,10 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático **ELITE STAR System**;

0,27 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System**;

0,87 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático «QIASymphony® SP/AS®».

Los datos correspondientes a cada factor de conversión se citan a continuación.

Sangre entera recolectada con EDTA

El factor de conversión se ha determinado utilizando un panel de cuatro diluciones (0,5 Log<sub>10</sub> entre una dilución y la siguiente) de material de referencia calibrado aprobado por la OMS ("1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques", NIBSC, Reino Unido, código 09/162) en sangre entera recolectada con EDTA.

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 8 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción con «**EXTRAblood**» y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,76 Unidades Internacionales (UI) por gEq de CMV detectado. Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y « <b>EXTRAblood</b> » (Fc = 0,76 UI / gEq)				
Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log <sub>10</sub> UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log <sub>10</sub> UI / mL
316,255	5,500	362,383	275,411	5,440
100,000	5,000	155,738	118,361	5,073
31,625	4,500	39,503	30,022	4,477
10,000	4,000	13,623	10,353	4,015

Los cuatro puntos del panel se han empleado en 15 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE STAR System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,79 Unidades Internacionales (UI) para gEq de CMV detectado en muestras de plasma. Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y «ELITE STAR System» (Fc = 0,79 UI / gEq)				
Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log <sub>10</sub> UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log <sub>10</sub> UI / mL
316.255	5,500	566.090	464.398	5,620
100.000	5,000	135.119	106.744	4,997
31.625	4,500	42.655	33.698	4,488
10.000	4,000	14.486	11.444	4,014
3.162	3,500	3.717	2.936	3,401

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 15 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema automático **ELITE GALAXY System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,51 Unidades Internacionales (UI) para gEq de CMV detectado en muestras de sangre entera. Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y ELITE GALAXY System (Fc = 0,51 UI / gEq)				
Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log <sub>10</sub> UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log <sub>10</sub> UI / mL
316.228	5,500	473.265	240.507	5,370
100.000	5,000	217.626	110.595	5,036
31.623	4,500	55.656	28.284	4,438
10.000	4,000	24.229	12.313	4,076
3.162	3,500	7.809	3.968	3,575

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 8 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucliSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,61 Unidades Internacionales (UI) por gEq de CMV detectado.

Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y «NucliSENS® easyMAG®» (Fc = 0,61 UI / gEq)				
Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log <sub>10</sub> UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log <sub>10</sub> UI / mL
316.255	5,500	564.835	344.549	5,537
100.000	5,000	178.704	109.009	5,037
31.625	4,500	51.454	31.387	4,497
10.000	4,000	14.141	8.626	3,936

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 8 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,46 Unidades Internacionales (UI) por gEq de CMV detectado. Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y «QIASymphony® SP/AS» (Fc = 0,46 UI / gEq)				
Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log <sub>10</sub> UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log <sub>10</sub> UI / mL
316.255	5,500	599.940	275.972	5,435
100.000	5,000	222.073	102.153	5,004
31.625	4,500	70.712	32.527	4,497
10.000	4,000	24.326	11.190	4,038

Plasma extraído con EDTA

El factor de conversión se ha determinado utilizando un panel de cuatro diluciones (0,5 Log<sub>10</sub> entre una dilución y la siguiente) de material de referencia calibrado aprobado por la OMS ("1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques", NIBSC, Reino Unido, código 09/162), en plasma extraído con EDTA.

Los cuatro puntos del panel se han empleado en 15 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE STAR System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 1,10 Unidades Internacionales (UI) para gEq de CMV detectado en muestras de plasma. Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con plasma y «ELITE STAR System» (Fc = 1,10 UI / gEq)				
Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log <sub>10</sub> UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log <sub>10</sub> UI / mL
316.255	5,500	282.851	311.136	5,481
100.000	5,000	107.043	117.747	5,058
31.625	4,500	30.868	33.955	4,512
10.000	4,000	8.632	9.495	3,972
3.162	3,500	2.814	3.096	3,478

Los cuatro puntos del panel se han empleado en 15 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,27 Unidades Internacionales (UI) para gEq de CMV detectado en muestras de plasma. Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con plasma y «ELITE GALAXY System» (Fc = 0,27 UI / gEq)				
Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log <sub>10</sub> UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log <sub>10</sub> UI / mL
316.228	5,500	1.095.881	301.020	5,413
100.000	5,000	460.141	126.393	5,033
31.623	4,500	117.258	32.209	4,448
10.000	4,000	43.980	12.081	4,058
3.162	3,500	13.713	3.767	3,546

BIODIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TÉCNICA  
BIOQUÍMICA  
APODERADA





PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 8 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,87 Unidades Internacionales (UI) por gEq de CMV detectado en muestras de plasma.

Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con plasma y«QIASymphony® SP/AS» (Fc = 0,87 UI / gEq)				
Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log <sub>10</sub> UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log <sub>10</sub> UI / mL
316.255	5,500	330.340	287.396	5,458
100.000	5,000	101.683	88.464	4,947
31.625	4,500	40.963	35.638	4,551
10.000	4,000	13.148	11.438	4,058

**Sensibilidad diagnóstica: eficiencia de la detección y cuantificación en distintos genotipos / subtipos**

La sensibilidad diagnóstica de la prueba, como eficiencia de detección y cuantificación en distintos genotipos / subtipos, ha sido evaluada confrontando las secuencias con bases de datos nucleotídicas.

El examen de las regiones elegidas para la hibridación de los oligonucleótidos cebadores y de la sonda fluorescente sobre la alineación de las secuencias disponibles en la base de datos del exon 4 del gen MIEA de CMV, entre las que se encuentran las de las cepas AD169 y Merlin, ha demostrado su conservación y la ausencia de mutaciones significativas.

La sensibilidad diagnóstica de la prueba, como eficiencia de detección y cuantificación en distintos genotipos / subtipos, ha sido evaluada utilizando una construcción plasmídica que contiene la región amplificada del CMV de la cepa Merlin.

La eficiencia de detección y cuantificación ha sido evaluada utilizando como material de referencia una construcción plasmídica que contiene la región amplificada del CMV de la cepa Merlin (GENEART A.G., Alemania). El ADN plasmídico ha sido diluido en las concentraciones de 100.000, 10.000, 1.000, 100 y 10 copias por reacción. Cada muestra ha sido utilizada para realizar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Eficiencia de detección y cuantificación con CMV cepa Merlin			
Muestra	Concentración teórica copias / reacción	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados copias / reacción
plásmido pMerlin 10 <sup>5</sup>	100.000	3 / 3	93.699
plásmido pMerlin 10 <sup>4</sup>	10.000	3 / 3	8.815
plásmido pMerlin 10 <sup>3</sup>	1.000	3 / 3	898
plásmido pMerlin 10 <sup>2</sup>	100	3 / 3	100
plásmido pMerlin 10 <sup>1</sup>	10	9 / 9	11

El plásmido Merlin ha sido detectado y cuantificado correctamente incluso en la concentración de 10 copias por reacción.

**Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas**

La sensibilidad diagnóstica de la prueba, como confirmación de muestras clínicas positivas, ha sido evaluada utilizando algunas muestras clínicas de sangre entera positivas para el ADN de CMV.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 54 muestras de sangre entera recolectada en EDTA negativas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el DNA de CMV	54	53	0

Una muestra ha arrojado un resultado "no válido" en dos sesiones de análisis distintas. El resultado "no válido", probablemente, ha sido determinado por un inhibidor no identificado presente en la muestra. Esta muestra ha sido excluida del cálculo de la sensibilidad diagnóstica. La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,1%.

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 60 muestras de sangre entera extraído con EDTA positivas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE STAR System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera con EDTA positiva para el DNA de CMV	60	58	0

Dos muestras reportaron un resultado "no válido" en dos sesiones de análisis independientes.

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 68 muestras de plasma recolectada en EDTA positivas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE STAR System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma recolectada en EDTA positiva para el DNA de CMV	68	66	2

Dos muestras han arrojado un resultado negativo con los productos ELITechGroup S.p.A. Esta discrepancia puede explicarse dado que el título CMV de la muestra es cercano o inferior al límite de revelación del método usado (280 gEq/mL).

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 97,1%.

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 60 muestras de sangre entera recolectada con EDTA positivas para el ADN de CMV (testadas con un producto CE IVD de amplificación real time). Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el DNA de CMV	60	60	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 51 muestras de plasma extraído con EDTA positivas para el ADN de CMV (testadas con un producto CE IVD de amplificación real time). Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma recolectada en EDTA positiva para el DNA de CMV	51	47	4

Cuatro muestras han arrojado un resultado negativo con los productos ELITechGroup S.p.A. Esta discrepancia puede explicarse dado que los títulos CMV de las muestras discordantes (respectivamente, <350 gEq/mL, <350 gEq/mL, 961 gEq/mL y 534 gEq/mL) son cercanos o inferiores al límite superior de revelación del método utilizado (1411 gEq/mL). Muestras dentro del intervalo de confianza del límite de revelación pueden arrojar estocásticamente un resultado positivo o negativo, debido a la distribución casual de las partículas virales.

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 92,16%.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 50 muestras de sangre entera recolectada en EDTA de donantes normales presumiblemente negativas, positivizadas para el ADN de CMV con una muestra de material de referencia certificada y calibrada (QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Qnostics Ltd, Escocia, Reino Unido) con un título de 1500 copias / mL. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucliSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positivizado para el DNA de CMV	50	50	0

La sensibilidad de diagnóstico de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,0%.

La sensibilidad de diagnóstico ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de sangre entera recolectada en EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV, positivizadas para el ADN de CMV con una muestra de material de referencia certificada y calibrada (QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Qnostics Ltd, Escocia, Reino Unido) con un título de 700 copias / mL. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positivizado para el DNA de CMV	60	60	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de plasma extraído con EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV, positivizadas para el ADN de CMV con una muestra de material de referencia certificada y calibrada (QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Qnostics Ltd, Escocia, Reino Unido) con un título de 360 copias / mL. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma recolectada en EDTA positivizado para el DNA de CMV	60	60	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma recolectada en EDTA positivizado para el DNA de CMV	60	60	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

**CMV ELITE MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La sensibilidad de diagnóstico ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de líquido cefalorraquídeo negativas, positivizadas para el ADN de CMV con una muestra de material de referencia certificada y calibrada (QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Qnostics Ltd, Escocia, Reino Unido) con un título de 300 copias / mL. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucliSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Líquido cefalorraquídeo positivizado para el ADN de CMV	60	60	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 52 muestras clínicas de orina positivas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucliSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Orina positiva para el ADN de CMV	52	52	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,1%.

**Especificidad analítica: ausencia de reactividad cruzada con 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 la alineación de las secuencias de los oligonucleótidos cebadores y de la sonda fluorescente con las secuencias disponibles en la base de datos de organismos distintos de CMV, entre las cuales se encuentran las del genoma completo de HHV6, el virus herpes humano más parecido al CMV, ha demostrado su especificidad y la ausencia de homologías significativas.

La especificidad analítica de la prueba, como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, ha sido verificada utilizando algunas muestras clínicas negativas para el ADN de CMV pero positivas para el ADN de HHV6, EBV y VZV que han sido confirmados negativos.

La especificidad analítica se ha corroborado utilizando como material de referencia 16 muestras de sangre entera recolectada en EDTA, negativas para el ADN de CMV, pero positivas para el ADN de HHV6, EBV y VZV (testadas con productos CE IVD de amplificación real time). Cada muestra ha sido 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
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de HHV6	8	0	8
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de EBV	7	0	7
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de VZV	1	0	1

**Especificidad diagnóstica: confirmación de muestras negativas**

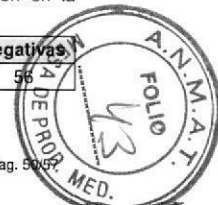
La especificidad diagnóstica de la prueba, como confirmación de muestras clínicas negativas, ha sido evaluada utilizando algunas muestras clínicas de sangre entera negativas para el ADN de CMV.

La especificidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 56 muestras de sangre entera recolectada en EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	56	0	56

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,2%.

BIODIAGNOSTICO S.A.  
 LAURA E. MERCAPIDE  
 DIRECTORA TECNICA  
 BIOQUIMICA  
 APODERADA





## PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

### CMV ELITe MGB® Kit detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 70 muestras de plasma extraído con EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema de extracción automático **ELITe STAR System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	70	0	63

Siete muestras reportaron un resultado "no válido" en dos sesiones de análisis independientes.

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 61 muestras de plasma extraído con EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema de extracción automático **ELITe STAR System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma extraído con EDTA negativa para el ADN de CMV	61	0	61

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 61 muestras de sangre entera recolectada con EDTA negativas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	66	0	65

Una muestra ha resultado "no válida" debido a un inhibidor no identificado en la muestra. Este ejemplo no se ha incluido en el cálculo de la sensibilidad de diagnóstico.

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 64 muestras de plasma extraído con EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema de extracción automático **ELITE GALAXY System** y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	64	0	64

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 50 muestras de sangre entera recolectada en EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucliSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	50	0	50

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,0%.

### CMV ELITe MGB® Kit detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 60 muestras de sangre entera recolectada en EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positívizado para el DNA de CMV	60	1	59

Una muestra de sangre entera negativa para el ADN de CMV ha dado un resultado positivo para CMV con los productos ELITechGroup S.p.A. El resultado discordante puede ser explicado debido a un título muy bajo del ADN de CMV (aproximadamente 2 gEq / reacción), por una infección latente de CMV, un virus ampliamente extendido en la población. La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 60 muestras de plasma extraído con EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	60	1	59

Una muestra de plasma negativa para el ADN de CMV ha arrojado un resultado positivo con un título de CMV demasiado bajo (aproximadamente 2 gEq / reacción) con los productos ELITechGroup S.p.A. Esta discrepancia puede explicarse con una infección latente de CMV, un virus ampliamente difundido en la población. La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 60 muestras de líquido cefalorraquídeo recolectada en EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucliSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Líquido cefalorraquídeo positívizado para el ADN de CMV	60	0	56

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 56 muestras de orina negativas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucliSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	Nº	positivas	negativas
Orina negativa para el ADN de CMV	56	1	55

Una muestra de orina negativa para el ADN de CMV ha dado un resultado positivo para CMV con los productos ELITechGroup S.p.A. El resultado discordante puede ser explicado debido a un título muy bajo del ADN de CMV (aproximadamente 4 gEq / reacción), probablemente por debajo que el límite de detección del método de referencia. La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,2%.

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**Resistencia: ausencia de contaminación cruzada**

La resistencia de esta prueba, como ausencia de contaminación cruzada, ha sido verificada analizando los resultados de cinco sesiones, en las cuales muestras negativas para el ADN de CMV han sido alternadas con muestras positivas para el ADN de CMV. Ninguna muestra negativa para el ADN de CMV ha resultado positiva.

La ausencia de contaminación cruzada ha sido verificada utilizando una muestra de sangre entera negativa para el ADN de CMV positivizada con el material de referencia calibrado y certificado OptiQuant CMV DNA (cepa AD169, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos) con un título de 8.300 gEq / mL y una muestra de sangre entera positiva para el ADN de CMV. Se han utilizado cinco series de 12 muestras, alternando una muestra positivizada con otra negativa, 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
Sangre entera recolectada en EDTA positivizada para el ADN de CMV	30	30	0
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	30	0	30

**Resistencia: tasa global de error del sistema**

La resistencia de la prueba, como tasa global de error del sistema que arroja resultados falsos negativos, ha sido verificada realizando el análisis de un panel de muestras positivizadas para el ADN de CMV con bajo título y ha resultado menor al 1,7%.

La tasa global de error ha sido verificada utilizando un panel de muestras de sangre entera negativa para el ADN de CMV positivizado con el material de referencia calibrado y certificado OptiQuant CMV DNA (cepa AD169, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos) con un título de 900 gEq / mL. Cada muestra del panel ha sido 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
Sangre entera recolectada en EDTA positivizada para el ADN de CMV	60	60	0

**Nota:** Los datos y los resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de las presentaciones del producto con las matrices y los equipos están señaladas en la Sección 7 del Fascículo Técnico del Producto "CMV ELITe MGB® Kit", FTP RTK015PLD.

**BIBLIOGRAFÍA**

T. E. Fenner et al. (1991) *J Clin Microbiology* 29: 2621 - 2622  
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

BIODIAGNOSTICOS S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TÉCNICA  
BIOQUÍMICA  
APODERADA

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Utilizar con este producto sólo el ADN extraído de las siguientes muestras clínicas: sangre entera recolectada con EDTA, plasma extraído con EDTA, líquido cefalorraquídeo, orina, hisopados bucales y líquido amniótico. No utilizar con este producto el ADN extraído de muestras heparinizadas: la heparina inhibe la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y produce resultados no válidos.

No utilizar con este producto ADN extraído contaminado por hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol o 2-propanol: estas sustancias inhiben la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y pueden causar resultados no válidos.

No utilizar con este producto ADN extraído que contenga elevadas cantidades de ADN genómico humano que puedan inhibir la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos.

No hay datos disponibles referidos a las prestaciones de este producto con el ADN extraído de las siguientes muestras clínicas: sospechas de leucocitos, suspensiones de granulocitos, líquido amniótico, saliva.

No hay datos disponibles 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 identificación, 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 CMV, 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 competente e 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 competente e 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 / detección de los productos de amplificación para evitar resultados falsos positivos.

Debido a las diferencias intrínsecas en las diferentes tecnologías, se recomienda realizar estudios de correlación para estimar estas diferencias antes de pasar a un producto nuevo.

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

Un resultado no válido obtenido con este producto indica que no se ha podido detectar de modo eficiente el ADN del Control Interno; en este caso se deberá repetir el análisis de la muestra a partir de la extracción con posibles retrasos en la obtención del resultado.

Los posibles polimorfismos en la región del genoma viral en los cuales hibridan los oligonucleótidos primers y la sonda del producto podrían perjudicar la detección y cuantificación del ADN de CMV. 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 ulteriormente. Este riesgo latente en situaciones particulares, como los diagnósticos prenatales y de urgencia, puede contribuir a decisiones incorrectas con consecuencias potencialmente graves para el paciente.



PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

**REF** RTK015PLD

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

**REF** RTK015PLD

**PROBLEMAS Y SOLUCIONES**







<b>ADN blanco no detectado en la reacción dos Q - PCR Standard o Coeficiente de correlación de la Curva estándar no válido</b>	
<b>Causas posibles</b>	<b>Soluciones</b>
Error en la dispensación de la microplaca.	Dispensar cuidadosamente los reactivos en la microplaca siguiendo el plan de trabajo. Controlar los volúmenes de mezcla de reacción dispensados. Controlar los volúmenes dos estándar distribuidos.
Degradación de la sonda.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla de amplificación.
Degradación del control positivo o estándar.	Utilizar una nueva alícuota de estándar.
Error en la programación del equipo.	Controlar la posición de las reacciones del estándar programada en el equipo. Controlar el ciclo térmico programado en el equipo.

<b>ADN blanco detectado en la reacción de Control negativo</b>	
<b>Causas posibles</b>	<b>Soluciones</b>
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 estándar en la microplaca siguiendo el plan de trabajo.
Error durante la programación del equipo.	Controlar la posición de muestras, control negativo y estándar 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 de la mezcla de amplificación.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla de amplificación.
Contaminación del área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.	Limpiar superficies e instrumentos con detergentes acuosos, lavar batas, sustituir probetas y tips en uso.

<b>Presencia de fluorescencia de fondo irregular o elevada en las reacciones</b>	
<b>Causas posibles</b>	<b>Soluciones</b>
Error en la dispensación de la muestra.	Mezclar cuidadosamente, pipeteando tres veces, muestras, control negativo y estándar en la mezcla de reacción. Evitar crear burbujas.
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 "Results", "Component") y que la fluorescencia de la señal no haya comenzado a crecer todavía, por ejemplo del ciclo 6 al ciclo 15. Programar el cálculo automático de la "baseline" seleccionando la opción "autobaseline".

<b>Presencia de curva de disociación anómala</b>	
<b>Causas posibles</b>	<b>Soluciones</b>
Ausencia de un pico definido. Pico definido pero diferente del de otras muestras y de los estándares.	Controlar que el Ct del detector FAM sea inferior a 30. Cantidades elevadas de producto de amplificación presentes al finalizar la reacción pueden interferir en el análisis de la curva de disociación. Repetir la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de un ADN blanco con una posible mutación. Para confirmar la presencia de una mutación, se debería secuenciar el ADN blanco presente en la muestra.

**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 0344** Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98\79\CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos *in vitro*. Certificación otorgada por DEKRA Certification B.V., the Netherlands.
-  Contenido suficiente para "N" test.
-  Atención, consultar las instrucciones de uso.
- CONT** Contenido.
-  Mantener alejado de la luz solar.
-  Fabricante.

# PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITe MGB® Kit**  
detección y cuantificación del ADN de CMV

REF RTK015PLD

## AVISO AL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto contiene los reactivos con licencia de LTC.

Este producto se vende sobre la base del contrato de licencia entre ELITechGroup® Inc. Molecular Diagnostics y sus afiliados y LTC, Inc. El precio de compra de este producto incluye los derechos - limitados y no transferibles - de usar esta cantidad de producto, únicamente para las actividades del comprador que sean directamente relacionadas con el diagnóstico humano. Para obtener información sobre la adquisición de una licencia de este producto para fines diferentes a los definidos anteriormente, por favor comuníquese con el Departamento de Licencias de Life Technologies, Inc., 5791 Val Allen Way, Carlsbad, CA 92008. Teléfono: +1(760)603-7200. Fax: +1(760)602-6500. Correo electrónico: outlicensing@LTC.com..

Los reactivos de detección ELITe MGB® están cubiertos por una o más patentes U.S. número 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,969,003, RE 38,416 RE 38,416 y de las patentes EP 0819133, 1068358, 1144429, 1232157, 1235938, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939, así como de solicitud de patentes que están actualmente pendientes.

Esta licencia limitada permite a la persona o entidad legal a la cual se proporcionó este producto, de usar el producto y los datos generados por el uso del producto, sólo para el diagnóstico humano. Ni ELITechGroup S.p.A., ni sus licenciadores conceden cualquier otra licencia, explícita o implícita para cualquier otro propósito.

BIODIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TÉCNICA  
BIOQUÍMICA  
APODERADA

\*ELITe MGB® y el logotipo "ELITe MGB" están registrados como marcas comerciales en la Unión Europea.

ELITe InGenius® es una marca registrada de ELITechGroup

-NucliSENS® easyMAG® son marcas registradas de bioMérieux.

-QIASymphony® es una marca registrada de QIAGEN.

«Ficol®» es una marca registrada de GE Healthcare.









**ELITE**  
M G B

**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

**CMV - ELITE Positive Control**  
control de ADN plásmidico por análisis cualitativo

REF CTR015PLD

**MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO**

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación y etiquetado
CMV - Positive Control	solución de plásmido	2 x 160 µL	-

**MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO**

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de nitrilo 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 Grado Biología Molecular.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia 7300 Real Time PCR System o 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument calibrado según las indicaciones del fabricante.

**OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS**

Los reactivos para la amplificación y las microplacas **no** están incluidas en este producto.

Para realizar estas fases analíticas el uso del producto «**CMV ELITE MGB® Kit**» (ELITechGroup S.p.A., código RTK015PLD), mezcla de reacción completa y lista para su uso para la amplificación real time, es requerido.

Si se requiere el uso de uno strumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup SpA, código INT030), se requiere el uso del producto genérico «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup SpA, código INT035PCR) consumibles para la amplificación en tiempo real.

Si se utiliza uno strumento 7300 Real-Time PCR System, se recomienda el uso del producto genérico «**Q - PCR Microplates**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC01) microplacas con pocillos de 0,2 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time con un equipo 7300 Real-Time PCR System.

Si se utiliza uno strumento 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, se recomienda el uso del producto genérico «**Q - PCR Microplates Fast**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC02) microplacas con pocillos de 0,1 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time con un equipo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument.

**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 121C° 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.

**CMV - ELITE Positive Control**  
control positivo de ADN plásmidico para análisis cualitativo

REF CTR015PLD



**ÍNDICE**

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. 3
BIBLIOGRAFÍA	pág. 4
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS	pág. 4

**USO PREVISTO**

El producto «**CMV - ELITE Positive Control**» se utiliza como control positivo en las pruebas cualitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la **detección del ADN del Citomegalovirus humano (CMV)** con el producto «**CMV ELITE MGB® Kit**» de ELITechGroup S.p.A.

**PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO**

El producto provee dos alícuotas de **Positive Control**, una soluciones estabilizadas de plásmido, **listas para su uso**. Cada probeta contiene **160 µL** de solución, suficiente para **4 sesiones** en asociación con el sistema «**ELITE InGenius®**», **6 sesiones** en asociación con el sistema «**ELITE GALAXY**» y **7 sesiones** en asociación con los otros sistemas validados mencionados en el manual de instrucciones para el uso del producto «**CMV ELITE MGB® Kit**».

El plásmido contiene la región amplificada del **exon 4 del gen MIEA de CMV**. La detección del ADN blanco durante la reacción de amplificación real time, confirma la capacidad del producto para detectar la presencia del ADN de CMV.

El producto permite efectuar **8 sesiones analíticas separadas** en asociación con el sistema «**ELITE InGenius**», **12 sesiones analíticas separadas** en asociación con el sistema «**ELITE GALAXY**» y **14 sesiones analíticas separadas** en asociación con los otros sistemas, utilizando 20 µL por reacción.

BIO DIAGNOSTICO S.A.  
LAURA E. MERCAPIDE  
DIRECTORA TÉCNICA  
BIOQUÍMICA  
APODERADA



## PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV - ELITE Positive Control**  
control de ADN plásmidico por análisis cualitativo

REF CTR015PLD

**CMV - ELITE Positive Control**  
control de ADN plásmidico por análisis cualitativo

REF CTR015PLD

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 atentamente todas las instrucciones provistas en el producto 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 usar 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 competente e 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.

Cuando la sesión de amplificación se configura manualmente, 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.

Cuando la sesión de amplificación se configura manualmente, 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

El **Positive Control** puede ser congelado y descongelado hasta un máximo de **siete veces**. Otros ciclos de congelación / descongelación podrían causar una pérdida de título.

## PROCEDIMIENTO

El producto « **CMV - ELITE Positive Control** » debe ser usado con la mezcla completa de reactivo del producto « **CMV ELITE MGB® Kit** ».

Antes de usar, extraer y descongelar las probetas de **CMV - ELITE Positive Control**. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo.











El procedimiento completo, las características de las prestaciones y los límites del procedimiento de la prueba completa, se describen de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta al producto « **CMV ELITE MGB® Kit** ».

**Nota:** en asociación con el instrumento « **ELITE InGenius** », el resultado de la amplificación del control positivo será memorizado por el instrumento y utilizado para crear una tarjeta de control. Para cada lote de producto « **CMV ELITE MGB® Kit** », se requiere una amplificación del control positivo, que expira después de **15 días**.

## BIBLIOGRAFÍA

T. E. Fenner et al. (1991) *J Clin Microbiology* 29: 2621 - 2622

## SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

	Número de catálogo.
	Límite superior de temperatura.
	Código de lote.
	Utilizar antes del último día del mes.
	Dispositivo médico diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos <i>in vitro</i> . Certificación otorgada por DEKRA Certification B.V., Países Bajos.
	Contenido suficiente para "N" test.
	Atención, consultar las instrucciones de uso.
	Contenido.
	Fabricante.

"ELITE MGB" y el logotipo "ELITE MGB" están registrados como marcas comerciales en la Unión Europea.

ELITE InGenius® es una marca registrada de ELITechGroup.



**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

**CMV ELITE Standard**  
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STD015PLD



**ÍNDICE**

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. 3
BIBLIOGRAFÍA	pág. 4
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS	pág. 4

**USO PREVISTO**

El producto «CMV ELITE Standard» se utiliza como control positivo y ADN estándar de cantidad conocida en las pruebas cuantitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la **detección y la cuantificación del ADN del Citomegalovirus humano (CMV)** con el producto «CMV ELITE MGB® Kit» de ELITechGroup S.p.A.

**PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO**

El producto suministra los **Q - PCR Standard**, cuatro soluciones estabilizadas con **título conocido de plásmido\***, cada una dosificada en una probeta y **listas para su uso**. Cada probeta contiene 200 µL de solución, suficiente para ocho sesiones.

El plásmido contiene una región amplificada del **exon 4 del gen MIEA de CMV**. La detección del ADN blanco durante la reacción de amplificación real time confirma su capacidad para detectar la presencia del ADN de CMV y permite calcular la curva estándar.

El producto permite efectuar **8 sesiones analíticas distintas** utilizando 20 µL por reacción.

La concentración del Q - PCR Standard se ha establecido utilizando materiales de referencia calibrados QCMD 2009 *Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel*, Qnostics Ltd, Escocia, Reino Unido, y OptiQuant CMV DNA, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos). Un Factor de conversión permite expresar los resultados cuantitativos en las Unidades Internacionales de CMV del "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC, Reino Unido, código 09/162).

**CMV ELITE Standard**  
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STD015PLD

**MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO**

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación y etiquetado
CMV Q - PCR Standard 10 <sup>5</sup>	solución de plásmido en probeta con tapón ROJO	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 <sup>4</sup>	solución de plásmido en probeta con tapón AZUL	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 <sup>3</sup>	solución de plásmido en probeta con tapón VERDE	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 <sup>2</sup>	solución de plásmido en probeta con tapón AMARILLO	1 x 200 µL	-

**MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO**

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de nitrilo o similares.
- Mezclador vortex.
- Microcentrífuga 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 Grado Biología Molecular.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia 7300 Real Time PCR System o 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument calibrado según las indicaciones del fabricante.

**OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS**

Los reactivos para la amplificación y las microplacas **no** están incluidas en este producto.

Para realizar estas fases analíticas el uso del producto «**CMV ELITE MGB® Kit**» (ELITechGroup S.p.A., código RTK015PLD), mezcla de reacción completa y lista para su uso para la amplificación real time, es requerido.

Si se requiere el uso de uno instrumento «**ELITE InGenius®**» (ELITechGroup SpA, código INT030), se requiere el uso del producto genérico «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup SpA, código INT035PCR) consumibles para la amplificación en tiempo real.

Si se utiliza uno instrumento 7300 Real-Time PCR System, se recomienda el uso del producto genérico «**Q - PCR Microplates**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC01) microplacas con pocillos de 0,2 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time con un equipo 7300 Real-Time PCR System.

Si se utiliza uno instrumento 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, se recomienda el uso del producto genérico «**Q - PCR Microplates Fast**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC02) microplacas con pocillos de 0,1 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time con un equipo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument.

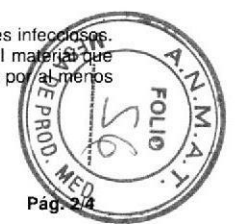
**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

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.

BIOMEDICINA  
 LAUREA MERCAPIDE  
 DIRETTORIA TECNICA  
 APODERADA





## PROYECTO MANUAL DE INSTRUCCIONES

**CMV ELITE Standard**  
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STD015PLD

**CMV ELITE Standard**  
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STD015PLD

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 atentamente todas las instrucciones provistas en el producto 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 usar 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 competente e 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.

Cuando la sesión de amplificación se configura manualmente, 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.

Cuando la sesión de amplificación se configura manualmente, 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

El Q - PCR Standard debe ser congelado y descongelado por un máximo de ocho veces. Otros ciclos de congelación / descongelación podrían causar una pérdida de título.

## PROCEDIMIENTO

El producto «CMV ELITE Standard» debe ser usado con la mezcla completa de reactivo del producto «CMV ELITE MGB® Kit».

Antes de uso, extraer y descongelar las probetas de CMV Q - PCR Standard. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo.

El Q - PCR Standard está listo para su uso, por lo tanto debe utilizarse agregándole 20 µL directamente a la mezcla de reacción.











El procedimiento completo, las características de las prestaciones y los límites del procedimiento de la prueba completa se describen de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta al producto «CMV ELITE MGB® Kit».

**Nota:** n asociación con el instrumento «ELITE InGenius», la curva de calibración será memorizada por el instrumento. Para cada lote de producto «CMV ELITE MGB® Kit», se requiere una curva de calibración que expirará después de 30 días.

## BIBLIOGRAFÍA

T. E. Fenner et al. (1991) *J Clin Microbiology* 29: 2621 - 2622

## SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

	Número de catálogo.
	Límite superior de temperatura.
	Código de lote.
	Utilizar antes del último día del mes.
	Dispositivo médico diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos <i>in vitro</i> . Certificación otorgada por DEKRA Quality B.V., Países Bajos.
	Contenido suficiente para "N" test.
	Atención, consultar las instrucciones de uso.
	Contenido.
	Fabricante.

“ELITE MGB” y el logotipo “ELITE MGB” están registrados como marcas comerciales en la Unión Europea.

ELITE InGenius® es una marca registrada de ELITechGroup.

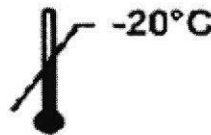


PROYECTO DE RÓTULOS

RÓTULOS EXTERNOS

**CMV ELITe MGB® Kit**

**LOT**



**CONT**

RTS015PLD	CMV Q - PCR Mix	4 x 540 µL
-----------	-----------------	------------



<http://www.elitechgroup.com/corporate/ifu-emd>



**ELITechGroup S.p.A.**

C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY

IMPORTADOR: BIODIAGNOSTICO S.A. – Av. Ingeniero Huergo 1437 PB “I” (1107) – Buenos Aires  
– Argentina- Legajo Nº 1201 Directora Técnica: Dra Laura Mercapide Autorizado por ANMAT -  
PM 1201-272

  
Bióq. Laura Mercapide  
Directora Técnica/Apoderada  
Biodiagnóstico S.A.

F



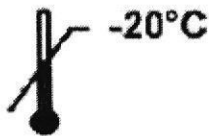
PROYECTO DE RÓTULOS

# CMV - ELITe Positive Control

**LOT**




**CE IVD**



**CONT**

CTR015PLD	CMV - Positive Control	2 x 160 $\mu$ L
-----------	------------------------	-----------------

 <http://www.elitechgroup.com/corporate/ifu-emd>

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

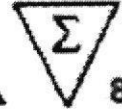
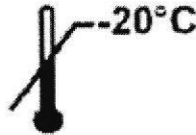
IMPORTADOR: BIODIAGNOSTICO S.A. – Av. Ingeniero Huergo 1437 PB “I” (1107) – Buenos Aires  
– Argentina- Legajo Nº 1201 Directora Técnica: Dra Laura Mercapide Autorizado por ANMAT -  
PM 1201-272

  
Bióq. Laura Mercapide  
Directora Técnica/Apoderada  
Biodiagnóstico S.A

PROYECTO DE RÓTULOS

**CMV ELITE Standard**

LOT



CONT

STD015PLD-2	CMV Q - PCR Standard 10 <sup>2</sup>	1 x 200 µL
STD015PLD-3	CMV Q - PCR Standard 10 <sup>3</sup>	1 x 200 µL
STD015PLD-4	CMV Q - PCR Standard 10 <sup>4</sup>	1 x 200 µL
STD015PLD-5	CMV Q - PCR Standard 10 <sup>5</sup>	1 x 200 µL



<http://www.elitechgroup.com/corporate/ifu-emd>



**ELITechGroup S.p.A.**

C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY

IMPORTADOR: BIODIAGNOSTICO S.A. – Av. Ingeniero Huergo 1437 PB "1" (1107) – Buenos Aires  
– Argentina- Legajo N° 1201 Directora Técnica: Dra Laura Mercapide Autorizado por ANMAT -  
PM 1201-272





PROYECTO DE RÓTULOS

RÓTULOS INTERNOS

1) CMV Q-PCR Mix



2) CMV Positive Control



PROYECTO DE RÓTULOS

3) Rótulos internos CMV Q – PCR Standard

Label for ELITE MGB STD031PLD-2. The label features the ELITE MGB logo at the top right, a starburst icon at the top left, and a reference number 'REF STD031PLD-2' in a box. Below this, it reads 'CMV Q - PCR Standard 10<sup>2</sup> 200 µL'. The label includes a lot number field 'LOT', a storage temperature icon for -20°C, and a QR code. At the bottom, it identifies the manufacturer as ELITechGroup S.p.A. with the address 'C.so Svizzera 185, 10149 Torino, ITALY'.

Label for ELITE MGB STD015PLD-3. The label features the ELITE MGB logo at the top right, a starburst icon at the top left, and a reference number 'REF STD015PLD-3' in a box. Below this, it reads 'CMV Q - PCR Standard 10<sup>3</sup> 200 µL'. The label includes a lot number field 'LOT', a storage temperature icon for -20°C, and a QR code. At the bottom, it identifies the manufacturer as ELITechGroup S.p.A. with the address 'C.so Svizzera 185, 10149 Torino, ITALY'.

PROYECTO DE RÓTULOS



**REF** STD015PLD-4  
CMV Q - PCR Standard  $10^4$  200  $\mu$ L



LOT



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



**REF** STD015PLD-5  
CMV Q - PCR Standard  $10^5$  200  $\mu$ L



LOT



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



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
2021 - Año de Homenaje al Premio Nobel de Medicina Dr. César Milstein

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Informe gráfico**

**Número:**

**Referencia:** RÓTULOS Y MANUALES DE INSTRUCCIONES

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 40 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica  
Date: 2021.12.13 12:55:29 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2021.12.13 12:55:32 -03:00





República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
Las Malvinas son argentinas

**Certificado - Redacción libre**

**Número:**

**Referencia:** EX-2021-120654643--APN-DGA#ANMAT

---

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN**

**PRODUCTOS MÉDICOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° EX-2021-120654643--APN-DGA#ANMAT

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por la firma BIODIAGNOSTICO S.A. se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de los nuevos productos médicos para diagnóstico *in vitro* con los siguientes datos:

**NOMBRE COMERCIAL:** 1) CMV ELITE MGB KIT; 2) CMV ELITE POSITIVE CONTROL y 3) CMV ELITE STANDARD.

**INDICACIÓN DE USO:** 1) Ensayo cualitativo y cuantitativo de amplificación de ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del ADN del virus humano Citomegalovirus (CMV) en muestras de ADN recolectado de sangre entera recolectada en EDTA, plasma recolectado en EDTA, líquido cefalorraquídeo, hisopados bucales, orina y líquido amniótico; 2) Control positivo en las pruebas cualitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección del ADN del virus humano Citomegalovirus (CMV) con el producto CMV ELITE MGB® Kit de ELITechGroup S.p.A.; y 3) Control positivo y ADN estándar de cantidad conocida para la detección y cuantificación del ADN del virus humano Citomegalovirus (CMV) con el producto CMV ELITE MGB® Kit de ELITechGroup S.p.A.

**FORMA DE PRESENTACIÓN:** 1) Envases por 100 determinaciones conteniendo: 4 tubos x 540 µL cada uno; 2) Positive Control, 2 Tubos x 160 µL cada uno; y 3) Envases por 8 tubos x 200 uL cada uno (CMV Q - PCR Standard 105 x 200 µL, CMV Q - PCR Standard 104 x 200 µL, CMV Q - PCR Standard 103 x 200 µL y CMV Q - PCR Standard 102x 200 µL).

**PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN:** 1) 24 (VEINTICUATRO) meses

desde la fecha de elaboración, conservado a -20°C; 2 y 3) 36 (TREINTA Y SEIS) meses desde la fecha de elaboración, conservado a -20°C.

**NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE:** ELITechGroup S.p.a - Corso Svizzera 185, 10149 Torino (ITALIA).

**CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA:** Venta a laboratorios de análisis clínicos e instituciones sanitarias. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM N°1201-272.

Expediente N° EX-2021-120654643--APN-DGA#ANMAT

rl

Digitally signed by Gestion Documental Electronica  
Date: 2022.01.20 12:49:17 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.01.20 12:49:18 -03:00