



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-002115-23-0

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-002115-23-0 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones BioSystems S.A. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro NGSgo-MX6-1.

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

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

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

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

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

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro NGSgo-MX6-1 de acuerdo con lo solicitado por BioSystems S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2023-152528194-APN-INPM%ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 626-190 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: NGSgo-MX6-1

Marca comercial: Genome Diagnostics B.V (GenDX)

Modelos:

N/A

Indicación/es de uso:

Los kits GenDx NGSgo-MX6-1 son kits de diagnóstico in vitro cualitativos pensados para la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de los siguientes genes presentes en el ADN genómico humano (sangre entera):

- HLA de clase I: HLA-A, -B, -C

- HLA de clase II: HLA-DRB1, -DQB1, -DPB1

NGSgo-MX6-1 está diseñado para ser utilizado por personal profesional en un entorno de laboratorio, capacitado en amplificación por PCR. Está destinado a un solo uso.

NGSgo-MX6-1 no está diseñado para fines de diagnóstico independientes. No está destinado a ser utilizado en procedimientos de trasplante donde el tiempo es un factor crítico

Forma de presentación: NGSgo-MX6-1 (Ref.: 7971464 para 96 reacciones)

- NGSgo-MX6-1: Primer (HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1): 1 frasco x 96 reacciones.
- GenDx-LongMix (Mezcla maestra PCR (4x)): 1 frasco x 96 reacciones.
- Nuclease Free water (H2O): 1 frasco x 1,25mL.

Período de vida útil y condición de conservación: 24 meses cuando se almacenan a -20 °C.

Nombre del fabricante:
Genome Diagnostics B.V

Lugar de elaboración:
Yalelaan 48, 3584 CM Utrecht, Países Bajos.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente Nro:
1-0047-3110-002115-23-0

Nº Identificadorio Trámite: 47247

Digitally signed by PEARSON Enriqueta Maria
Date: 2024.01.29 17:23:59 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.01.29 17:24:01 -03:00

GENDX

NGSgo[®]-MX6-1

Amplificación de HLA para posteriores aplicaciones de secuenciación

Instrucciones de uso

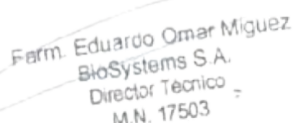
HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1

Versión 7, 2021/04

MAT 7810004

CE 0123


Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.


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

ACTUALIZACIONES Y NOTAS IMPORTANTES

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONTENIDOS

1	Nota sobre símbolos	5
2	Contenido del kit	6
3	Envío y almacenamiento	7
4	Asistencia técnica	7
5	FIN previsto	8
6	Advertencias y precauciones	9
7	Principio	11
8	Procedimiento	11
9	Características de rendimiento	12
10	Equipo y reactivos <i>proporcionados por el usuario</i>	14
11	Protocolos	15
12	Anexo A. Control de contaminación	18
13	Guía de resolución de problemas	19
14	Contrato de licencia limitada	20
	Información sobre pedidos	21

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Descargo de responsabilidad

GenDx ha hecho todo lo posible para que estas instrucciones de uso sean precisas. La información de estas instrucciones de uso puede cambiar sin previo aviso.

GenDx se reserva el derecho de realizar mejoras en estas instrucciones de uso o en los productos descritos en ellas en cualquier momento sin previo aviso.

Si encuentra información en este manual que sea incorrecta, ambigua o incompleta, estaremos muy agradecidos por sus comentarios y sugerencias. Envíelos a info@gendx.com

Derechos de autor








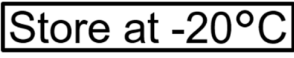





Esta publicación, incluidas todas las fotografías e ilustraciones, está protegida por las leyes internacionales del copyright, con todos los derechos reservados. Ni este manual ni el material que contiene puede reproducirse sin el consentimiento por escrito del autor.

© Copyright 2021

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1 NOTA SOBRE SÍMBOLOS

	Marcado CE
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Número de material
	Volumen
	Componentes
	Código de partida/Número de lote
	Número de catálogo
	Almacenar a -20 °C
	Contiene reactivos para pruebas N
	Añadir líquido
	Fecha de caducidad
	Fabricante legal
	Consultar las instrucciones de uso

www.gendx.com/ifu

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2 CONTENIDO DEL KIT

Contenido del kit NGSgo-MX6-1 (Cat n.º 7871464: CE)	
NGSgo-MX6-1	N.º mat. 7071464.1
Primer HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1	96 rxn, tapa verde
GenDx-LongMix	N.º mat. 5007652.1
Mezcla maestra PCR (4x)	96 rxn, tapa negra
Agua sin nucleasas	N.º mat. 3000000 1,25 ml, tapa blanca

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3 ENVÍO Y ALMACENAMIENTO

Envío y almacenamiento

- El kit NGSgo-MX6-1 se envía con hielo o hielo seco y debe almacenarse a -20 °C a su llegada.
- Los cambios en la apariencia física de los reactivos del kit pueden indicar el deterioro del producto y pueden interferir con los resultados.
- En caso de que el envase esté dañado, póngase en contacto con support@gendx.com.

Vida útil

- El kit NGSgo-MX6-1 es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta de la caja si se almacena a -20 °C.

Estabilidad en uso

- El kit NGSgo-MX6-1 es estable durante al menos 12 meses después de disolver el primer en H₂O libre de nucleasas si se almacena a -20 °C.
- El kit NGSgo-MX6-1 puede resistir al menos 5 ciclos de congelación/descongelación.

4 ASISTENCIA TÉCNICA

Para obtener asistencia técnica y más información:

Email: support@gendx.com

Página web: www.GenDx.com

Teléfono: +31 30 252 3799

O póngase en contacto con su distribuidor local de GenDx
(www.gendx.com/company/distributors)

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

5 FIN PREVISTO

Los kits GenDx NGSgo-MX6-1 son kits de diagnóstico in vitro cualitativos pensados para la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de los siguientes genes presentes en el ADN genómico humano:

- HLA de clase I: HLA-A, -B, -C
- HLA de clase II: HLA-DRB1, -DQB1, -DPB1

El tipo de muestra es ADN genómico humano. La prueba está destinada a generar amplicones que sean adecuados para el genotipado de HLA mediante aplicaciones de secuenciación posteriores. Los amplicones generados se pueden usar para obtener información de genotipado de alta resolución sobre los genes HLA que se pueden usar con fines de trasplante. La prueba es independiente del termociclador.

NGSgo-MX6-1 está diseñado para ser utilizado por personal profesional en un entorno de laboratorio, capacitado en amplificación por PCR. Está destinado a un solo uso.

NGSgo-MX6-1 no está diseñado para fines de diagnóstico independientes. No está destinado a ser utilizado en procedimientos de trasplante donde el tiempo es un factor crítico.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

6 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Limitaciones de uso del producto

- Para garantizar los mejores resultados, utilice los kits NGSgo-MX6-1 con los materiales, reactivos y equipo recomendados en la sección «Equipo y reactivos proporcionados por el usuario». ¡El uso de materiales distintos de los especificados debe ser validado por el usuario!
- La reconstitución o disolución de los reactivos en volúmenes distintos de los especificados en estas instrucciones de uso pueden provocar resultados incorrectos y se desaconsejan.
- GenDx no puede prestar asistencia en caso de problemas debidos al incumplimiento de estas instrucciones de uso.
- Tenga en cuenta especialmente el anexo A «Control de contaminación».
- En caso de que las condiciones de la muestra y/o la PCR no sean óptimas, pueden observarse desequilibrios en la proporción alélica para HLA-DRB1 y HLA-DQB1. En caso de tipajes homocigóticos, se recomienda examinar cuidadosamente los datos por si hubiera presencia del alelo menos común por debajo del límite de detección. Específicamente los alelos DQB1*02/03 en combinación con los alelos DQB1*05/06, y los alelos DRB1*04 pueden quedar infrarrepresentados. Para un análisis óptimo, utilice NGSengine 2.12.0 o superior y seleccione la configuración de preferencias predeterminada de NGSgo-MX6-1. En caso de desequilibrios en la proporción de alelos, puede bajarse el umbral de proporción de alelos. Puede obtenerse una tipificación satisfactoria del alelo menos común con los datos de Illumina NGS en proporciones de hasta 90:10 % siempre que la diferencia señal/ruido sea mayor o igual al 10 %.
- En caso de que los resultados del tipaje sean homocigóticos, se recomienda comprobar si la muestra es realmente homocigótica o si contiene un segundo alelo que está infrarrepresentado en los datos. La validación de HLA-DRB1 puede hacerse con NGSgo-Ampx v2 DRB1 Whole Gene. La verificación de otros loci puede hacerse con GenDx AlleleSEQR HLA o mediante cualquier otra estrategia de tipificación de HLA validada de terceros.
- El alelo HLA-DQB1*03:276N no puede distinguirse de HLA-DQB1*03:01:01:01/10/20 y dará resultados ambiguos en las muestras que contengan los alelos HLA-DQB1*03:01:01:01, HLA-DQB1*03:01:01:10 o HLA-DQB1*03:01:01:20, ya que las secuencias de estos alelos son idénticas en el amplicón.

Validación del ensayo

- El ensayo ha sido validado en el sistema Applied Biosystems ProFlex PCR y el termociclador Veriti para la amplificación. El uso de termocicladores Biometra o Kyratec no está recomendado. Otros termocicladores precisan de la validación del usuario final.
- El ensayo ha sido validado con reactivos de preparación de bibliotecas de NGSgo compatibles con Illumina, y las plataformas de secuenciación MiSeq e iSeq 100 (Illumina). Otras plataformas de secuenciación con química similar a MiSeq (MiniSeq, HiSeq, NextSeq, etc.) son compatibles con este ensayo, pero las condiciones óptimas en estas plataformas deben ser determinadas por el usuario.
- El ensayo es compatible con la plataforma de secuenciación PacBio Sequel II System. El usuario debe determinar las condiciones óptimas de este sistema.
- El ensayo ha sido validado para utilizar con ADN genómico sanguíneo. Antes de poner en marcha el flujo de trabajo de NGSgo para el tipaje de HLA mediante NGS en su laboratorio, lleve a cabo una validación de los métodos de tipaje basados en secuenciación con muestras moleculares tipificadas conocidas. Dichas muestras (paneles de referencia HLA) pueden obtenerse del International Histocompatibility Working Group o del Coriell Institute.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Información de seguridad

- Cuando trabaje con productos químicos, lleve siempre una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas de protección. Para obtener más información, así como las consideraciones sobre eliminación de residuos, consulte las hojas de datos de seguridad de materiales oportunas, que están disponibles en www.gendx.com.
- Si se ha producido algún incidente grave en relación con este producto, notifíquese a GenDx lo antes posible para que sea posible comunicarlo a las autoridades competentes en su país.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

7 PRINCIPIO

NGSgo-MX6-1 consta de reactivos de amplificación por PCR para amplificar los genes del antígeno leucocitario humano (HLA).

Los reactivos permiten la amplificación multiplexada de los siguientes genes de HLA: HLA-A (gen entero), HLA-B (gen entero), HLA-C (gen entero), HLA-DRB1 (del exón 2 al 3), HLA-DQB1 (del exón 2 a parte del 4) y HLA-DPB1 (del exón 2 al 5).

8 PROCEDIMIENTO

La amplificación específica de locus de HLA se realiza en un termociclador con la mezcla del primer NGSgo-MX6-1, el ADN genómico molde y GenDx-LongMix PCR. Los amplicones resultantes específicos de locus de HLA pueden utilizarse después para identificar alelos de HLA por medio de Secuenciación de Nueva Generación en una plataforma de NGS de Illumina.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

9 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El resumen de seguridad y rendimiento está disponible en Eudamed.

Características analíticas de rendimiento

Especificidad analítica

La especificidad analítica, definida como la capacidad de detectar solo el analito a detectar, se validó verificando la especificidad del locus.

- Se generan datos de secuencia específicos de HLA que se pueden mapear y asignar al locus HLA correcto cuando se usa NGSengine.
- Ocasionalmente, HLA-Y se coamplifica con HLA-A. HLA-Y (también conocido como HLA-BEL) es un pseudogén relacionado con HLA-A. HLA-Y está asociado con al menos los siguientes tipos de HLA-A: HLA-A*30:01, -A*33:01, -A*33:03, -A*68:02, -A*29:01, -A*02:03, -A*02:05. La presencia de este producto específico no interfiere con el análisis de datos en la mayoría de los casos. Sin embargo, si el nivel de ruido se vuelve demasiado alto, los datos pueden volver a analizarse incluyendo HLA-Y como gen en el análisis.

Precisión

Se evaluó la repetibilidad y la reproducibilidad de NGSgo-MX6-1 determinando la variabilidad interlotes e intralotes empleando múltiples lotes dentro de una serie y entre series e instrumentos, incluidos los efectos de entradas de ADN diferentes.

- Según los estudios, la repetibilidad y la reproducibilidad son elevadas, y NGSgo-MX6-1 proporciona unos resultados sólidos y puede tolerar las variabilidades que se describen en estas instrucciones de uso en una serie sin afectar a los resultados y calidad del tipaje de HLA.

Exactitud

Los paneles de muestras de ADN genómico, que constan de líneas celulares IHWG y muestras clínicas, se procesaron con NGSgo-MX6-1.

- En casos raros, los resultados de NGSgo-MX6-1 fueron discordantes con los datos pre-escritos. Esto se puede atribuir a
 - 1) identificación de nuevos alelos;
 - 2) resolución limitada del pre-escrito.En todos los demás casos, las muestras analizadas se tipificaron correctamente y en total concordancia con los datos pre-escritos.
- El nivel de resolución alcanzado con NGSgo-MX6-1 para la mayoría de las muestras y loci es una tipificación de HLA de nivel de resolución alta o alélica. Las ambigüedades de los alelos son evidentes cuando las posiciones de los nucleótidos discriminantes están ubicadas fuera del amplicón NGSgo-MX6-1. Estas ambigüedades de segundo campo se refieren a:

DRB1*01:02:01 - DRB1*01:83
DRB1*04:07:01:01 - DRB1*04:92
DRB1*04:10:01 - DRB1*04:10:03
DRB1*07:01:01:01 - DRB1*07:79
DRB1*08:01:01 - DRB1*08:77
DRB1*09:01:02:01 - DRB1*09:21
DRB1*09:01:02:01 - DRB1*09:31
DRB1*12:01:01:01 - DRB1*12:10
DRB1*15:02:01:01 - DRB1*15:140
DRB1*15:02:01:01 - DRB1*15:149
DQB1*02:02:01:01 - DQB1*02:97
DQB1*03:01:01:01 - DQB1*03:276N

Farm. Eduardo M. Aguirre
BioSystems S.A.
Director Técnico

M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

DQB1*03:01:01:01 - DQB1*03:01:41
DQB1*03:2:01:01 - DQB1*03:2:26
DQB1*04:02:01:01 -DQB1*04:02:13
DQB1*05:03:01:01 - DQB1*05:149
DQB1*06:01:01:01 - DQB1*06:01:15
DQB1*06:4:01 - DQB1*06:4:11

- Pueden darse ambigüedades de genotipo debido a la obtención de varias fases de lectura, lo cual puede atribuirse a la menor densidad de posiciones polimórficas en un locus. Por ejemplo, esto se observa para DPB1. Cuando el exón 2 de DPB1 (que codifica el punto de unión del antígeno) está secuenciado en su totalidad con precisión y con una obtención de varias fases de lectura, el nivel de resolución se sigue definiendo como elevado.
- El ensayo de amplificación de NGSgo-MX6-1, junto con NGSengine, permite la identificación de todos los alelos nulos excepto uno de los seis locus de 6 HLA presentes en la base de datos IPD-IMGT/HLA 3.33.0. El alelo HLA-DQB1*03:276N no puede distinguirse de HLA-DQB1*03:01:01:01/10/20 y dará resultados ambiguos en las muestras que contengan los alelos HLA-DQB1*03:01:01:01, HLA-DQB1*03:01:01:10 o HLA-DQB1*03:01:01:20, ya que las secuencias de estos alelos son idénticas en el amplicón.
- HLA-DQB1*03:02 puede estar infrarrepresentado en los datos, lo que provocaría un tipaje homocigótico falso.

Límites de detección y rango de medición

Se determinó el límite de detección estableciendo el rango del ensayo.

- La cantidad óptima de ADN molde que hay que utilizar en una reacción PCR NGSgo-MX6-1 es 120 ng. Sin embargo, puede emplearse ADN molde de entre 60 y 180 ng, en un volumen de hasta 3 µl, sin afectar a los resultados.

Características clínicas de rendimiento

Valores predictivos positivos y negativos

El valor predictivo clínico positivo es del 100 %, basado en siete muestras suministradas y analizadas en tres sitios de estudio. En cada sitio, las siete muestras se tipificaron correctamente para ambos alelos (verdadero positivo) y ninguna se tipificó incorrectamente (falso positivo).

El valor predictivo clínico negativo es del 100 %, basado en un control negativo probado en tres sitios de estudio, que permaneció negativo durante la prueba (verdadero negativo) y siete muestras clínicas, de las cuales ninguna fue negativa durante la prueba (falso negativo).

Sensibilidad y especificidad diagnóstica

Según los valores predictivos positivos y negativos, la sensibilidad y la especificidad diagnósticas son ambas del 100 %.

Valores esperados en poblaciones normales y afectadas

El HLA siempre está presente en todos los individuos, independientemente del estado de la enfermedad. Por lo tanto, los valores esperados en poblaciones normales frente a afectadas son idénticos.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

10 EQUIPO Y REACTIVOS PROPORCIONADOS POR EL USUARIO

- Bloque frío o hielo
- Pipetas y puntas de pipeta con filtros hidrófobos
- Termociclador
- Microcentrifugadora
- Agitador vórtex
- Tubos o placa de PCR (utilice los tubos de PCR de pared fina de 0,2 ml que recomiende el fabricante de su termociclador)
- Sistema de electroforesis en gel de agarosa

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

11 PROTOCOLOS

PROTOCOLO 1: AMPLIFICACIÓN

Notas importantes antes de comenzar

- El ADN purificado debería tener una proporción de A_{260}/A_{280} de $\sim 1,8$.
- Si es preciso, el ADN debe disolverse en H₂O libre de nucleasas antes de utilizar.
- La cantidad óptima de ADN molde que hay que utilizar en una reacción es 120 ng. Sin embargo, puede emplearse ADN molde de entre 60 y 180 ng (en 1 -3 μ l) sin afectar a los resultados. Este rango se ha validado basándose en un volumen de mezcla de reacción de 10 μ l, pero extrapolado a 15 μ l.
- Cuando se introduce menos de 60 ng o más de 180 ng de ADN, hay riesgo de desequilibrio de alelos o locus en la amplificación.
- Para racionalizar el proceso, valide su procedimiento de purificación de ADN para que pueda utilizar un volumen fijo correspondiente a 120 ng de ADN.
- Las muestras de sangre deben tomarse en tubos con ACD o EDTA como anticoagulante. **NO utilice muestras heparinizadas.** La heparina tiene efecto inhibidor en una PCR.

Preparación del primer

- Debería verse el gránulo de primer naranja antes de usarse. Centrifugue el tubo con el primer durante al menos un minuto antes de abrirlo por primera vez para asegurar que el gránulo de primer naranja esté en el fondo del tubo.
- Vuelva a poner en suspensión el gránulo de primer en 160 μ l de agua libre de nucleasas (incluida).
- Invierta el tubo un par de veces, agítelo bien en el vórtex y centrifúguelo durante un minuto. Repita este paso al menos dos veces.

Protocolo

1. Coloque todas las reacciones en un bloque frío o sobre hielo.
2. Descongele 4x de mezcla maestra GenDx-LongMix (tapa negra), el H₂O libre de nucleasas (tapa blanca) y el primer NGSgo-MX6-1 (tapa verde).
3. Mezcle bien los reactivos y centrifúguelos un poco antes de usar.
4. Prepare una mezcla de reacción como se muestra en la tabla 1.
El volumen de la mezcla de reacción debe ser ~ 10 % mayor del necesario para el número total de ensayos que se vayan a realizar.

Importante: Incluya un control negativo sin adición de ácido nucleico para detectar posibles contaminaciones

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Tabla 1. Composición de la mezcla de reacción para la amplificación de HLA

Componente	Volumen
H ₂ O libre de nucleasas (tapa blanca)	6.75 - 8.75 µl
GenDx-LongMix (4x)(tapa negra)	3.75 µl
Primer NGSgo-MX6-1 (tapa verde)	1.5 µl
ADN molde (~120 ng)	1 - 3 µl
Volumen total	15 µl

- Mezcle bien la mezcla de reacción y centrifúguela un poco.
- Distribuya la mezcla de reacción en cada tubo PCR. El volumen adecuado es 15 µl menos la cantidad de ADN que se añade en el paso siguiente.
- Añada 1 - 3 µl de ADN molde (~120 ng) a cada tubo con mezcla de reacción.
- Programa el termociclador de acuerdo con las instrucciones del fabricante manteniendo las condiciones indicadas en la tabla 2.

Importante: No debe aplicarse un arranque en caliente.

Tabla 2. Protocolo de ciclado para la amplificación.

Paso	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización inicial	95 °C	3 min.
Ciclado en tres pasos, 25 ciclos		
Desnaturalización	95 °C	15 s
Hibridación	65 °C	30 s
Elongación	68 °C	5 min.
25 ciclos		
Elongación final	68 °C	10 min.
Refrigeración	15 °C	∞

- Confirme los productos de la PCR mediante un sistema de detección adecuado como la electroforesis en gel de agarosa. Prepare un gel de agarosa 1 % peso/volumen de acuerdo con el protocolo de su laboratorio y analice 2 µl de cada ensayo PCR. El tamaño aproximado de los amplicones va de 3,1 a 5,7 kb.

Los amplicones se pueden almacenar durante al menos 3,5 meses a temperaturas de hasta 8 ° C.

Nota: La electroforesis en gel es opcional después de validar el ensayo. Para grandes conjuntos de muestras se prefiere seguir directamente con la preparación de la biblioteca sin verificar previamente los amplicones con electroforesis en gel. En ese caso, las pérdidas de la amplificación pueden identificarse durante el análisis de los datos.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RECOMENDACIONES PARA LA SECUENCIACIÓN

Para la preparación de librerías con reactivos NGSgo (GenDx), consulte las instrucciones de uso del flujo de trabajo NGSgo compatible con Illumina, o bien NGSgo Library Full Kit. Empiece en el protocolo 3A (fragmentación y ligación de adaptador).

Utilice 2 µl de la reacción PCR NGSgo-MX6-1 como entrada para la preparación de la biblioteca (protocolo 3), que debería estar entre 50 y 1000 ng (lo ideal son 250 ng).

Es posible normalizar la concentración de amplicones de cada muestra, de modo que se utilice 250 ng como entrada estándar. No obstante, la cuantificación de los amplicones no es necesaria, ya que 2 µl debería ser igual a la cantidad óptima de entrada de ~250 ng.

Para secuenciar en un MiSeq (Illumina), lleve a cabo una secuenciación de final emparejado con reactivos de secuenciación de MiSeq V2 (300 ciclos). En la tabla 3 hay una lista de celdas de flujo adecuadas y su capacidad de muestreo. Véase también la hoja de cálculo de celdas de flujo de GenDx (www.GenDx.com).

Para la secuenciación en otras plataformas NGS, comuníquese con el soporte de GenDx (support@gendx.com) para obtener más información.

Tabla 3. Capacidad de celdas de flujo de Illumina

Plataforma de Illumina	Número de Muestras NGSgo-MX6-1*
MiSeq Nano celda de flujo (0,3 Gb)	10
MiSeq Micro celda de flujo (1,2 Gb)	40
MiSeq Estándar celda de flujo (4,5 Gb)	150
iSeq 100 (1,2 Gb)	40

*El número de muestras recomendado por celda de flujo se basa en una densidad de clusters prudente de 800 K/mm², con el objetivo de una profundidad de lectura de ~500 por locus para interceptar la variación de entrada de amplicones y de densidad de cúmulos. Aunque una profundidad de lectura superior a 200 lecturas es óptima para la separación de fases, se ha conseguido secuenciar y tipificar HLA con éxito incluso con profundidades de lectura de 50 utilizando el software de tipificación de HLA NGSengine.

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

Dr. MARIANA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

12 ANEXO A. CONTROL DE CONTAMINACIÓN

IMPORTANTE:

Precauciones físicas generales

- Tenga en cuenta que al abrir los tubos después de la PCR se pueden liberar productos de la amplificación por medio de aerosoles que pueden contaminar su lugar de trabajo. Por este motivo, las áreas de trabajo para los procedimientos anteriores y posteriores a la amplificación deben estar separados, como se indica en las normas EFI y ASHI.
- Lo ideal sería que los procedimientos anteriores y posteriores a la amplificación se llevaran a cabo en salas separadas.
- La puesta en suspensión de nuevo de los primers y la preparación de la mezcla de reacción de amplificación específica del locus deben llevarse a cabo en el área anterior a la amplificación. El termociclado y los protocolos siguientes deben efectuarse en el área posterior a la amplificación.
- Utilice un juego de pipetas separado para los procedimientos previos a la amplificación. Se recomienda encarecidamente utilizar puntas de pipetas con filtros hidrófobos.
- En caso de contaminación, será preciso descontaminar las mesas del laboratorio, los aparatos y las pipetas, por ejemplo con un 1 % de desinfectante Trigene de acuerdo con las instrucciones del fabricante. A ser posible, deben desecharse las muestras y reactivos contaminados.
- Prepare y congele pequeñas alícuotas de soluciones del primer. Se recomienda encarecidamente el uso de H₂O libre de nucleasas suministrada en el kit.

Precauciones químicas generales

- Las soluciones de PCR también pueden descontaminarse con luz ultravioleta. Sin embargo, este método es laborioso y es difícil controlar su eficiencia, con lo que esta no puede garantizarse. Recomendamos almacenar las soluciones en pequeñas alícuotas y utilizar alícuotas nuevas para cada PCR.
- Otra solución para evitar la amplificación de ADN contaminante es tratar cada mezcla de reacción con ADNasa o enzimas de restricción que cortan entre los puntos de unión de los primers de amplificación utilizados antes de añadir la muestra de ADN molde.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

13 GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

GenDx-LongMix no se ha añadido a la mezcla de la PCR o no se ha mezclado debidamente cuando se añadió	Repita la amplificación asegurándose de añadir la mezcla de la reacción de amplificación y mezclarla bien.
Baja producción de amplicones	Vuelva a cuantificar el ADN y repita la PCR añadiendo 120-180 ng de ADN. Si no, repita la PCR con 30 ciclos. No debe recurrirse a aplicar 30 ciclos como procedimiento estándar, ya que esto puede generar ruido en los locus de clase I.
ADN genómico degradado o de baja calidad	Prepare un gel de agarose 1% y añada ADN genómico para evaluar la calidad. El ADN purificado debería tener una proporción de A_{260}/A_{280} de ~1,8.
Equilibrio de alelos insuficiente	Repita la PCR añadiendo una mayor concentración de ADN (120-180 ng).
Balance de alelos DQB1 subóptimo	Repita la amplificación reemplazando 1,5 μ l de H ₂ O sin nucleasa con 1,5 μ l de potenciador NGSgo-AmpX v2 por reacción.
En los datos de secuenciación se da la presencia de HLA-Y	HLA-Y puede ser detectado en ocasiones a niveles bajos. En caso de interferencia del HLA-Y con los datos de HLA-A, vuelva a analizar los datos con una base de datos de referencia de HLA-Y para distinguir las lecturas de HLA-A y HLA-Y.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

14 CONTRATO DE LICENCIA LIMITADA

El uso de este producto significa que el comprador o usuario de los kits GenDx NGSgo-MX6-1 está de acuerdo con las siguientes condiciones:

- Los kits NGSgo-MX6-1 solo pueden utilizarse de acuerdo con las instrucciones de uso de NGSgo-MX6-1. GenDx no concede ninguna licencia en virtud de su propiedad intelectual para utilizar o incorporar los componentes incluidos en el kit con otros componentes no incluidos en él, con excepción de lo descrito en las instrucciones de uso de GenDx NGSgo-MX6-1 y los protocolos adicionales disponibles en www.GenDx.com.
- Aparte de lo declarado expresamente en las licencias, GenDx no garantiza que el kit o su uso no vulnere los derechos de terceros.
- El kit y sus componentes se licencian para un único uso y no pueden reutilizarse, reacondicionarse ni revenderse.
- GenDx rechaza específicamente cualquier otra licencia, explícita o implícita, aparte de las indicadas expresamente.
- El comprador o usuario del kit se comprometen a no llevar a cabo acciones que pudieran conllevar o facilitar actos prohibidos arriba ni permitírsele a otros. GenDx podrá hacer valer ante cualquier tribunal las prohibiciones de este contrato de licencia limitada y recuperará todos sus gastos de investigación y legales, incluidos los honorarios de los abogados, de cualquier procedimiento para hacer valer este contrato de licencia limitada o cualquiera de sus derechos de propiedad intelectual asociados al kit o a sus componentes.
- Para ver los términos actualizados de la licencia, visite www.GenDx.com

Marcas comerciales: NGSgo® es una marca registrada de Genome Diagnostics B.V.

Otros: Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN DE PEDIDO

Los productos de GenDx cuentan con la asistencia directa de GenDx o la de su distribuidor o vendedor local. Póngase en contacto con su distribuidor local de GenDx (www.GenDx.com) o con el equipo de atención al cliente de GenDx en el número +31 302 523 799 o en order@gendx.com para obtener cualquier información sobre los productos o solicitar un presupuesto.



Genome Diagnostics B.V.
Nombre comercial de GenDx
Alexander Numan Building
Yalelaan 48
3584 CM Utrecht
Países Bajos

Teléfono: +31 (0)30 252 3799
Fax: +31 (0)30 254 2611
Email: info@gendx.com
Página web: www.GenDx.com

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ROTULOS "NGSgo-MX6-1"

Rotulo Externo

Genome Diagnostics B.V.
Valeaan 48, 3584CM, Utrecht, the Netherlands
(10)2200000(17)220100
UDI (01)08718469369386
GENDX
GENDX
NGSgo[®]-MX6-1
HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1

IVD CE 0123
www.gendx.com/ifu
REF 7971464
LOT 22000000

Σ 96
2022-01
Store at -20°C

NGSgo[®]-MX6-1

HLA A, B, C, DRB1, DQB1, ▽96
DPB1

COMP	MAT
MX6 1	7071464.1
GenDx-Longmix (4x)	5007652.1
Nuclease free water	3000000

i MAT 7910004
www.gendx.com/ifu
REF 7971464, v1

Importado por:

BioSystems S.A

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL:(54-11)4854-7775

Directora Técnica: Eduardo Omar Miguez MN: 17503

Producto para diagnóstico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

PM: 626-190

Certificado N°:

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

Nuclease Free water (H2O)

Nuclease Free H2O

LOT 1900000000 2019-01

VOL 1.25 ml  Store at -20°C

GENDX
MAT 3000000



GenDx-LongMix

GenDx-LongMix (4X)

MAT 5007652.1

GENDX

LOT 1901367652 2021-06

▽ 96  Store at -20°C 

NGSgo-MX6-1

NGSgo®-MX6-1

HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1

LOT 1500001464 2022-10

▽ 96  Store at -20°C

GENDX
MAT 7071464.1

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: BIOSYSTEMS S.A. rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 23 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.12.26 08:57:11 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.12.26 08:57:12 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-002115-23-0

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

Expediente N° 1-0047-3110-002115-23-0

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: NGSgo-MX6-1

Marca comercial: Genome Diagnostics B.V (GenDX)

Modelos:

N/A

Indicación/es de uso:

Los kits GenDx NGSgo-MX6-1 son kits de diagnóstico in vitro cualitativos pensados para la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de los siguientes genes presentes en el ADN genómico humano (sangre entera):

- HLA de clase I: HLA-A, -B, -C

- HLA de clase II: HLA-DRB1, -DQB1, -DPB1

NGSgo-MX6-1 está diseñado para ser utilizado por personal profesional en un entorno de laboratorio, capacitado en amplificación por PCR. Está destinado a un solo uso.

NGSgo-MX6-1 no está diseñado para fines de diagnóstico independientes. No está destinado a ser utilizado en procedimientos de trasplante donde el tiempo es un factor crítico

Forma de presentación: NGSgo-MX6-1 (Ref.: 7971464 para 96 reacciones)

- NGSgo-MX6-1: Primer (HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1): 1 frasco x 96 reacciones.

- GenDx-LongMix (Mezcla maestra PCR (4x)): 1 frasco x 96 reacciones.

- Nuclease Free water (H2O): 1 frasco x 1,25mL.

Período de vida útil: 24 meses cuando se almacenan a -20 °C.

Nombre del fabricante:

Genome Diagnostics B.V

Lugar de elaboración:

Yalelaan 48, 3584 CM Utrecht, Países Bajos.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 626-190 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente Nro:

1-0047-3110-002115-23-0

Nº Identificador Trámite: 47247

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.01.29 17:24:21 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.01.29 17:24:23 -03:00