



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Disposición

Número: DI-2018-1554-APN-ANMAT#MS

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Lunes 19 de Febrero de 2018

Referencia: 1-47-3110-3974/17-9

VISTO el expediente N° 1-47-3110-3974/17-9 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma TECNOLAB S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico uso In Vitro denominado FTD Zika/Dengue/Chik.

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

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece 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 del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 el por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- 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 denominado FTD Zika/Dengue/Chik, de acuerdo a lo solicitado por la firma TECNOLAB S.A. con los datos característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento N° IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM-1252-141", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5°.- Regístrese. Inscribese 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 4°. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

Nombre comercial: FTD Zika/Dengue/Chik.

Indicación de uso: Ensayo de PCR multiplex para la detección cualitativa de ARN viral de los virus Zika, Dengue y Chikungunya extraídos desde muestras de suero, plasma y orina de origen humano. Para Dengue y Chikungunya también puede usarse sangre entera.

Forma de presentación: Envases por 32 (64) reacciones, conteniendo ZIKV PP: 1 (2) vial(es) x 48 µl, DG PP: 1 (2) vial(es) x 48 µl, ZIKV PC: 1 (2) vial(es) x 150 µl, DG PC: 1 (2) vial(es) x 150 µl, NC: 1 vial x 2000 (4000) µl, IC: 1 (2) vial(es) x 128 µl, Enzyme: 1 (2) vial(es) x 64 µl, Buffer: 1 (2) vial(es) x 800 µl.

Período de vida útil y condición de conservación: DOCE (12) meses desde la fecha de elaboración, conservado a -20 °C.

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

Nombre y dirección del fabricante: Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l., 29, rue Henri Koch, L-4354 Esch-sur-Alezette (LUXEMBURGO).

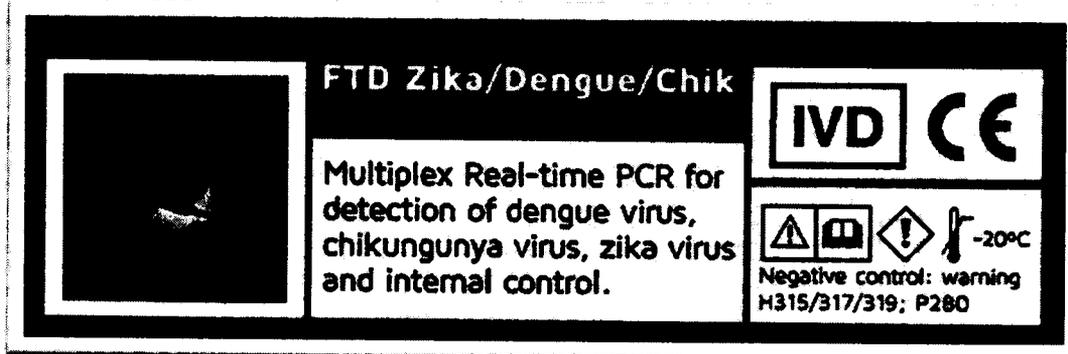
Expediente N° 1-47-3110-3974/17-9

Digitally signed by LEDE Roberto Luis
Date: 2018.02.19 09:04:04 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Roberto Luis Lede
SubAdministrador
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -
GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,
o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE
MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT
30715117564
Date: 2018.02.19 09:04:06 -0300

FTD Zika/Dengue/Chik por 32 reacciones (referencia no. FTD-84-32)



32 rxn

Components: (* plus a small pipetting margin)

ZIKV PP: 77Zikv-yymmdd00 (1x 48ul*)
DG PP: 43Deng-yymmdd00 (1x 48ul*)
ZIKV PC: 77PC-yymmdd00 (1x 150ul*)
DG PC: 43PC-yymmdd00 (1x 150ul*)
Negative Ctrl: NC-yymmdd00 (1x 2000ul*)
Internal Ctrl: IC-yymmdd00 (1x 128ul*)
25x RT-PCR Enz.: ZDC16-32-00 (1x 64ul*)
2x RT-PCR Buff.: ZDC16-32-00 (1x 800ul*)



REF FTD-84-32

LOT ZDC16-32-00

W 2016-06

H 2017-06

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba Nº 964 - c1427cco.
C.A.B.A. Argentina. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACION: Fast Track Diagnostics
Luxembourg S.à.r.l.; 29, rue Henri Koch; L-4354 Esch-sur-
Alzette; Luxemburgo.

Ver manual de instrucciones en español en
www.tecnolab.com.ar

APROBADO POR A.N.M.A.T. CON PM: 1252-141

FTD Zika/Dengue/Chik por 64 reacciones (referencia no. FTD-84-64)

	FTD Zika/Dengue/Chik	IVD CE
	Multiplex Real-time PCR for detection of dengue virus, chikungunya virus, zika virus and internal control.	   -20°C Negative control: warning H315/317/319; P280

64 rxn

Components:(* plus a small pipetting margin)

ZIKV PP: 77Zikv-yymmdd00 (2x 48ul*)
DG PP: 43Deng-yymmdd00 (2x 48ul*)
ZIKV PC: 77PC-yymmdd00 (2x 150ul*)
DG PC: 43PC-yymmdd00 (2x 150ul*)
Negative Ctrl: NC+-yymmdd00 (1x 4000ul*)
Internal Control: IC-yymmdd00 (2x 128ul*)
25x RT-PCR Enz.: ZDC16-64-00 (2x 64ul*)
2x RT-PCR Buff.: ZDC16-64-00 (2x 800ul*)



REF FTD-84-64

LOT ZDC16-64-00

M 2016-06

H 2017-06

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba Nº 964 - c1427cco.
C.A.B.A. Argentina. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TÉCNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACION: Fast Track Diagnostics
Luxembourg S.à.r.l.; 29, rue Henri Koch; L-4354 Esch-sur-
Alzette; Luxemburgo.

Ver manual de instrucciones en español en
www.tecnolab.com.ar

APROBADO POR A.N.M.A.T. CON PM: 1252-141

ROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS – FTD Zika/Dengue/Chik

FTD Zika/Dengue/Chik por 32 reacciones (referencia no. FTD-84-32)

ID: FTD-77/84
RGT: ZIKV PP
LOT: 77ZIKV-YYMMDD00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

ID: FTD-43/84
RGT: DG PP
LOT: 43DENG-YYMMDD00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

ID: FTD-77/84
RGT: ZIKV PC
LOT: 77PC-YYMMDD00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

ID: FTD-43/84
RGT: DG PC
LOT: 43PC-YYMMDD00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

RGT: Internal Ctrl
LOT: IC-YYMMDD00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
STORAGE: -20C

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

ID: FTD-84
RGT: 2 x RT-PCR Buff.
LOT: ZDC16-3E-00
EXP: 06-2017

ID: FTD-84
RGT: 25 x RT-PCR Enz.
LOT: ZDC16-3E-00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

 Negative Ctrl
Storage: 3 -20°C
Lot: NC-YYMMDD00
Exp: June 2017

FTD Zika/Dengue/Chik por 64 reacciones (referencia no. FTD-84-64)

ID:FTD-77/84
RGT: ZIKV PP
LOT: 77ZIKV-YYmdd00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

ID:FTD-43/84
RGT: DG PP
LOT: 43Dens-YYmdd00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

ID:FTD-77/84
RGT: ZIKV PC
LOT: 77PC-YYmdd00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

ID:FTD-43/84
RGT: DG PC
LOT: 43PC-YYmdd00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

RGT: Internal Ctrl
LOT: IC-YYmdd00
EXP: 06-2017

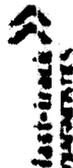
FAST TRACK
DIAGNOSTICS
STORAGE: -20C

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C

ID:FTD-84
RGT: 2x RT-PCR Buff.
LOT: ZDC16-64-00
EXP: 06-2017

ID:FTD-84
RGT: 25x RT-PCR Enz.
LOT: ZDC16-64-00
EXP: 06-2017

FAST TRACK
DIAGNOSTICS
IVD CE
STORAGE: -20C



Negative Ctrl
Storage: -20°C
Lot: NC+YYmdd00
Exp: June 2017

Manual

FTD Zika/Dengue/Chik



32 reacciones (referencia no. FTD-84-32)



64 reacciones (referencia no. FTD-84-64)

Ensayo cualitativo para uso Diagnostico *in vitro*

Para uso con termocicladores **ABI® 7500, ABI® 7500 Fast, ViiA™7, Bio-Rad CFX96, LightCycler® 480, Rotor-Gene 3000/6000/Q y SmartCycler®**

CE

IVD

REF

FTD-84-32, FTD-84-64



Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l.; 29, rue Henri Koch; L-4354 Esch-sur-Alzette; Luxemburgo.

IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

Índice

1. IDENTIFICACIÓN DEL FABRICANTE E IMPORTADOR	3
2. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	3
3. USO PREVISTO	4
4. INFORMACIÓN DEL PATÓGENO.....	4
5. CONTENIDO.....	5
6. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS.....	5
6.1 INFORMACIÓN DE SEGURIDAD.....	5
6.2 REQUISITOS DE MANIPULACIÓN	6
6.3 ELIMINACIÓN SEGURA DE RESIDUOS.....	6
7. CONDICIONES DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD	6
8. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO	7
9. EQUIPO NECESARIO NO INCLUIDO	7
10. MUESTRAS.....	8
11. PROCEDIMIENTO	8
11.1 PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN PRELIMINAR CON EASYMAG®.....	8
11.2 PUESTA A PUNTO GENERAL DE LA PCR.....	9
12. PROGRAMACIÓN DEL TERMOCICLADOR	13
13. VALIDACIÓN DEL ENSAYO.....	13
14. ANÁLISIS EN SISTEMAS ABI® 7500	16
15. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	19
16. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	19
17. VALIDACIÓN	21
19. SÍMBOLOS	21

1. Identificación del fabricante e importador

Fabricante:

Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l.
29, rue Henri Koch
L-4354 Esch-sur-Alzette
Tel.: +352 281098-1
Fax: +352 281098-214
info@ftd-ltd.com

Importador:

Tecnolab S.A.
Estomba N° 964
Ciudad Autónoma de Buenos Aires – Argentina.
Tel: (011) 4555-0010
www.tecnolab.com.ar

2. Identificación del producto

FTD Zika/Dengue/Chik

Categoría: PCR "multiplex" en tiempo real para la detección del virus de Zika, virus del Dengue y virus Chikungunya y control interno.

Referencia: FTD-84-32 Test para 32 reacciones
FTD-84-64 Test para 64 reacciones.

Los reactivos provistos en los kits son suficientes para 32 o 64 reacciones. Estas presentaciones permiten una flexibilidad máxima de 1 a 30 pacientes en FTD-84-32 y de 1 a 62 pacientes en FTD-84-64. En la Tabla 1 se muestra la capacidad máxima y mínima del kit de acuerdo a las cantidades de ciclos de PCR ejecutados.

Tabla 1: Cantidad mínima y máxima de pacientes y de corridas de acuerdo al número de determinaciones para FTD-84-32 y FTD-84-64.

FTD-84-32		
	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>
Cantidad de pacientes	1	30
Cantidad de corridas	10	1
FTD-84-64		
	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>
Cantidad de pacientes	1	62
Cantidad de corridas	20	1

Indicación: Para uso Diagnóstico *in vitro*.

IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

3. Uso previsto

FTD Zika/Dengue/Chik es un ensayo de PCR multiplex para la detección cualitativa de ARN viral de los virus del Zika, Dengue y Chikungunya extraídos desde muestras de suero/plasma y orina de origen humano (para Dengue y Chikungunya también puede usarse sangre entera).

4. Información del patógeno

Virus del Zika (ZIKV), es un flavivirus ARN de una sola cadena positiva que lo porta los mosquitos de especie *Aedes*. En los seres humanos, causa una gama de enfermedades desde pacientes asintomáticos a síntomas similares a la influenza, conocida como fiebre de Zika, Zika, o enfermedad de Zika, que se la conoce en el cinturón ecuatorial de África a Asia desde los años 50. En 1947 el ZIKV fue aislado de un mono rhesus en Uganda. En 2014, el virus se extendió hacia el Este a través del Océano Pacífico hacia la Polinesia Francesa, luego a la Isla de Pascua y en 2015 a América Central, el Caribe y Sudamérica, donde el brote de Zika ha alcanzado niveles de pandemia. En mayo de 2015, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) emitió una alerta sobre la primera infección confirmada por el virus Zika en Brasil. El brote en Brasil dio lugar a casos de síndrome de Guillain-Barré y en mujeres embarazadas se reportaron casos de neonatos con algún defecto (por ejemplo, microcefalia) y embarazos complicados en general.

Virus del Dengue (DENV), es un virus de ARN de cadena positiva del género *flavivirus*. DENV se transmite a los seres humanos por la picadura de mosquitos infectados del género *Aedes*, principalmente mosquitos *Aedes aegypti*. Después de un período de incubación de 2 a 7 días, la infección del dengue se convierte en asintomática en la mayoría de los casos o puede dar lugar a un amplio espectro de síntomas clínicos, que van desde un síndrome gripal leve como fiebre en combinación con dolor de cabeza intenso, dolor retro-orbital, mialgia y artralgia (conocida como fiebre del dengue) a las formas más graves de la enfermedad, que se caracterizan por leucopenia, trombocitopenia, aumento de la permeabilidad y fragilidad vascular (dengue hemorrágico). Este último puede progresar al shock hipovolémico (síndrome de shock del dengue). La infección por DENV es una de las principales causas de enfermedades en áreas tropicales y subtropicales, con 50-100 millones de infecciones que ocurren cada año.

Virus del Chikungunya (ChikV), es un virus ARN monocatenario del género *alphavirus*, identificado por primera vez en Tanzania en 1953. La transmisión de este virus se produce por la picadura de mosquitos infectados del género *Aedes*. También es posible la transmisión sanguínea. El período de incubación oscila entre 3 y 12 días. El inicio suele ser abrupto y la fase aguda se caracteriza por fiebre alta repentina, artralgia incapacitante, mialgias y erupción cutánea. La artritis crónica puede desarrollarse en alrededor del 15% de los pacientes y se asocia con fiebre, astenia, exacerbación de artralgias, poliartritis inflamatoria y rigidez. También se han descrito manifestaciones neurológicas, oculares y mucocutáneas.

5. Contenido

Tabla 2: Tabla de contenidos. PP: cebadores y sondas. IC: control interno. PC: control positivo. NC: control negativo.

	Contenido	FTD-84-32	FTD-84-64
ZIKV PP	Mezcla de cebadores y sondas para virus del Zika y IC (control interno).	1 x 48 µl	2 x 48 µl
DG PP	Mezcla de cebadores y sondas para virus del Dengue y virus del Chikungunya y IC (control interno).	1 x 48 µl	2 x 48 µl
	Control positivo conteniendo un pool de plásmidos para virus del Zika.	1 x 150 µl	2 x 150 µl
	Control positivo conteniendo un pool de plásmidos para para virus del Dengue y virus del Chikungunya.	1 x 150 µl	2 x 150 µl
NC	Control negativo.	1 x 2000 µl	1 x 4000 µl
	Control interno.	1 x 128 µl	2 x 128 µl
	Mezcla de enzima para RT-PCR (Fast-track mastermix), 25x.	1 x 64 µl	2 x 64 µl
Buffer	Tampón para RT-PCR (Fast-track mastermix), 2x.	1 x 800 µl	2 x 800 µl

Cada vial contiene volumen adicional para la imprecisión de pipeteado. La caja en sí, la tapa de la caja y cada vial están etiquetados con un número de lote.

6. Precauciones y advertencias

6.1 Información de seguridad

Advertencia: el control negativo contiene tampón de lisis.

Pictograma de peligro:



IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

Palabra de advertencia: Atención

Indicaciones de peligro:

H315: Provoca irritación cutánea.

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H319: Provoca irritación ocular grave.

Consejos de prudencia:

Prevención:

P280: Llevar guantes/guardapolvos/gafas/máscara de protección.

6.2 Requisitos de manipulación

El uso de este producto debe quedar restringido a personal entrenado en técnicas de PCR. Este producto debe utilizarse conforme a las buenas prácticas de laboratorio. Tome las precauciones apropiadas habituales para la manipulación de todos los reactivos de laboratorio. No mezcle reactivos procedentes de lotes diferentes. No utilice el producto una vez transcurrida su fecha de caducidad (período de conservación: 1 año).

6.3 Eliminación segura de residuos

La eliminación de todos los residuos y reactivos sin usar debe realizarse de acuerdo con la legislación estatal, regional o local.

7. Condiciones de conservación y estabilidad

Los componentes del producto deben almacenarse en su embalaje original a -20 °C y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en su etiquetado. El producto se suministra en paquetes congelados que deberían garantizar una temperatura inferior a +10 °C durante el transporte (apropiado según los estudios de estabilidad). Cada "set" de reactivos de un kit es válido para 32 o 64 reacciones. Congele el producto inmediatamente después de su uso. Debe evitarse realizar más de 9 ciclos de descongelación y congelación de los reactivos por tubo, ya que podría reducirse la sensibilidad del ensayo. Recomendamos preparar alícuotas de los reactivos de acuerdo con sus necesidades tras la primera descongelación.

Para consultar los datos de estabilidad, visite <http://www.fast-trackdiagnostics.com/resources/product-information/validation-files/>.

IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

8. Principio del procedimiento

El ARN viral es transcrito a ADNc usando un primer específico mediado por un paso de transcripción reversa seguido inmediatamente en el mismo tubo por una reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La presencia de secuencias específicas del patógeno se detecta por un incremento en la fluorescencia observada de la sonda correspondiente, y es indicada como un valor de ciclo umbral (Ct) por el termociclador en tiempo real. El ensayo usa el *Streptococcus equi* (Sequi) y el virus BMV (Brome Mosaic Virus) como un control de extracción (control interno - IC) que es agregado a cada muestra y el control negativo agregado al buffer de lisis en el proceso de extracción.

9. Equipo necesario no incluido

Los kits FTD son aptos para su uso con los sistemas Applied Biosystems® 7500/7500 Fast (Thermo Fisher Scientific), CFX96® (BIO-RAD), LightCycler®480 (Roche) y Rotor-Gene 3000, 6000, Q (Qiagen) así como con SmartCycler® (Cepheid; en este caso en combinación con el software Life Science 2.0d). El ensayo ha sido completamente validado en un equipo Applied Biosystems® 7500 y con NucliSENS® easyMag® (bioMérieux). Si desea emplear termocicladores, o procedimientos de extracción diferentes, compruebe antes su compatibilidad con Fast-Track Diagnostics.

- Recomendamos utilizar FTD® smartmix cuando se usa SmartCycler®
- Guantes desechables sin polvo
- Pipetas (ajustables)
- Puntas de pipeta estériles con filtro
- Agitador tipo vórtex
- Centrífuga para microtubos de 1,5 ml y placas de 96 pocillos.
- Para ABI® 7500, CFX96® y LightCycler®480, se recomienda emplear placas para PCR de 96 pocillos y tapas selladoras. Cuando se utilice Rotor-Gene 3000/ 6000/ Q y SmartCycler® se recomienda emplear tubos y tapones adecuados.
- Gradilla de muestras

El archivo de validación de Fast-track y una lista detallada de compatibilidad están disponibles en <http://www.fast-trackdiagnostics.com/resources/product-information/validation-files/>.

10. Muestras

Este kit debe utilizarse con ácido nucleico extraído desde suero/plasma u orina de origen humano. Para Dengue y Chikungunya también puede usarse sangre entera. Para largos períodos de conservación, luego de la extracción, FTD recomienda conservar las muestras a -20 °C.

Atención: las muestras de pacientes heparinizados no deben usarse debido a que la heparina es un conocido inhibidor de la reacción de PCR.

11. Procedimiento

11.1 Procedimiento preliminar de extracción utilizando easyMAG®

Si desea utilizar métodos de extracción distintos, compruebe antes su compatibilidad en la página www.fast-trackdiagnostics.com.

Extracción de muestras y control negativo con easyMAG®:

1. Descongele el control negativo (NC, tapón blanco) y el control interno (IC, tapón azul oscuro). Antes de poder utilizarse, los reactivos deben estar completamente descongelados y haberse mezclado (brevemente en el agitador vórtex) y centrifugado brevemente.
2. Extraiga las muestras y el NC. Recomendamos un volumen inicial para la extracción de 200 µl y un volumen de elución de 55 µl.

Como es bien sabido, la sensibilidad aumenta si se extrae un gran volumen de material clínico en un pequeño volumen de eluido. Este hecho resulta particularmente importante con tipos de muestras cuya carga viral es baja, por ejemplo LCR (y otras). En este caso, recomendamos un volumen de entrada de al menos 500 µl. Cuando se requiera una sensibilidad extrema, por ejemplo en determinadas situaciones clínicas que impliquen la presencia en sangre del virus del VIH o de la hepatitis, debería extraerse un volumen de partida de hasta 1 ml. Siga las recomendaciones del fabricante del kit de extracción.

3. Añada 2 µl de control interno (IC, tapón azul) directamente al tampón de lisis de cada extracción. No añada nunca directamente el control interno a las muestras a menos que estén diluidas en tampón de lisis. Añadir el control interno a cada una de las muestras y al control negativo resulta crucial para comprobar si la extracción de los ácidos nucleicos ha sido correcta y para verificar la posible inhibición de la PCR.

IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

4. No extraiga controles positivos, ya que al ser plásmidos se inhibirán.
5. No olvide volver a congelar los volúmenes sobrantes de NC e IC después de cada uso.

11.2 Puesta a punto de la PCR

Preparación de la PCR con Fast-track mastermix:

1. Descongele los reactivos necesarios para la reacción: ZIKV PP, DG PP, ZIKV PC, DG PC y el tampón 2x RT-PCR (Fast-track mastermix, tapón azul claro) de Fast-track mastermix. Los dos PC y el NC extraído deben incluirse en cada corrida. Antes de poder utilizarse, los reactivos deben estar completamente descongelados y haberse mezclado (brevemente en el agitador vórtex) y centrifugado brevemente. Los controles positivos deben descongelarse a temperatura ambiente durante 20-30 minutos y mezclarse en el agitador vórtex concienzudamente justo antes de usarse. No olvide mantener en frío en todo momento la enzima 25x RT-PCR (Fast-track mastermix, tapón naranja) de Fast-track mastermix en el congelador o en un bloque de enfriamiento.
2. Pipetee la cantidad necesaria de 2x RT-PCR buffer en un microtubo de 1.5 mL. Para evitar desperdiciar material y para obtener volúmenes más exactos no sumerja completamente la punta en el líquido al pipetear el 2x RT-PCR buffer. Pipetee con movimientos suaves y lentos para evitar la formación de burbujas de aire. Deslice la punta contra la pared interior del tubo para eliminar el exceso de líquido presente en el exterior de la punta antes de dispensar.
3. Añada la cantidad correspondiente de ZIKV PP o DG PP al 2x RT-PCR buffer (ver Tabla 3). Recuerde cambiar las puntas después de cada pipeteo.
4. Pipetee la cantidad necesaria de enzima 25x RT-PCR en la mezcla de reacción (ZIKV PP o DG PP con 2x RT-PCR buffer) (ver Tabla 3). Para evitar desperdiciar material y para obtener volúmenes más exactos no sumerja completamente la punta en el líquido al pipetear el 25x RT-PCR enzyme. Pipetee con movimientos suaves y lentos para evitar la formación de burbujas de aire. Deslice la punta contra la pared interior del tubo para eliminar el exceso de líquido presente en el exterior de la punta antes de

IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

dispensar. No olvide cambiar las puntas cada vez que pipetee. Agite la mezcla de reacción completa brevemente en el agitador vórtex y centrifúguela. Si utiliza SmartCycler®, añada 4 µl de FTD smartmix por reacción a las mezclas de reacción.

5. Recuerde volver a congelar los volúmenes restantes de PP, PC y tampón 2x RT-PCR buffer luego de utilizarlos.

Tabla 3: Cantidades necesarias de reactivos para 1, 15, 32 y 64 pocillos.

FTD-84-32: Cada PPMix es suficiente para 32 reacciones (+ error de pipeteo). Permite incluir como mínimo a 1 paciente y como máximo a 30, más 1 PC y 1 NC.

FTD-84-64: Cada PPMix es suficiente para 64 reacciones (+ error de pipeteo). Permite incluir como mínimo a 1 paciente y como máximo a 62, más 1 PC y 1 NC.

Número de reacciones		1	15	32	64
FTD-84-32/64	Tampón	12,5 µl	187,5 µl	400 µl	800 µl
	PPmix	1,5 µl	22,5 µl	48 µl	96 µl
	Enzima	1 µl	15 µl	32 µl	64 µl

Preparación de una placa de 96 pocillos para sistemas ABI® 7500:

Todas nuestras pruebas se han validado en sistemas ABI® 7500, Bio-Rad CFX96™, LightCycler® 480 y RotorGene. Si prefiere utilizar un equipo Bio-Rad CFX96™ o LightCycler® 480, tendrá que usar placas y láminas adhesivas apropiadas. En cuanto a RotorGene y SmartCycler®, utilice tubos y tapones adecuados. Si prevé ejecutar los ensayos en un termociclador distinto, consulte antes la página www.fast-trackdiagnostics.com.

	<u>Preparación de una placa de 96 pocillos para ABI 7500</u>
1.	Utilice una placa de 96 pocillos compatible con sistemas ABI® 7500.
2.	Pipetee en los pocillos correspondientes 15 µl de mezcla de reacción.
3.	Pipetee en los pocillos correspondientes 15 µl de mezcla de reacción (UTriGaHSV PP).
4.	Añada 10 µl de las muestras extraídas, el control negativo extraído y los controles positivos (los cuales no deben extraerse; descongele el control positivo a temperatura ambiente durante 20-30 minutos y mézclelo en el agitador vórtex concienzudamente justo antes de utilizarlo). Cada corrida debe incluir un control negativo y uno positivo.
5.	Pipetee ligeramente arriba y abajo el contenido de los pocillos para mezclarlo.
6.	Cierre la placa con una película adhesiva óptica ABI.
7.	Mezcle los componentes agitando la placa en el agitador vórtex y centrifúguela brevemente después.
8.	Introduzca la placa en el sistema ABI® 7500.
9.	La figura 1 (12 pacientes + PC +NC) es un ejemplo de cómo colocar las muestras y controles en una placa para sistemas ABI 7500 para un kit.

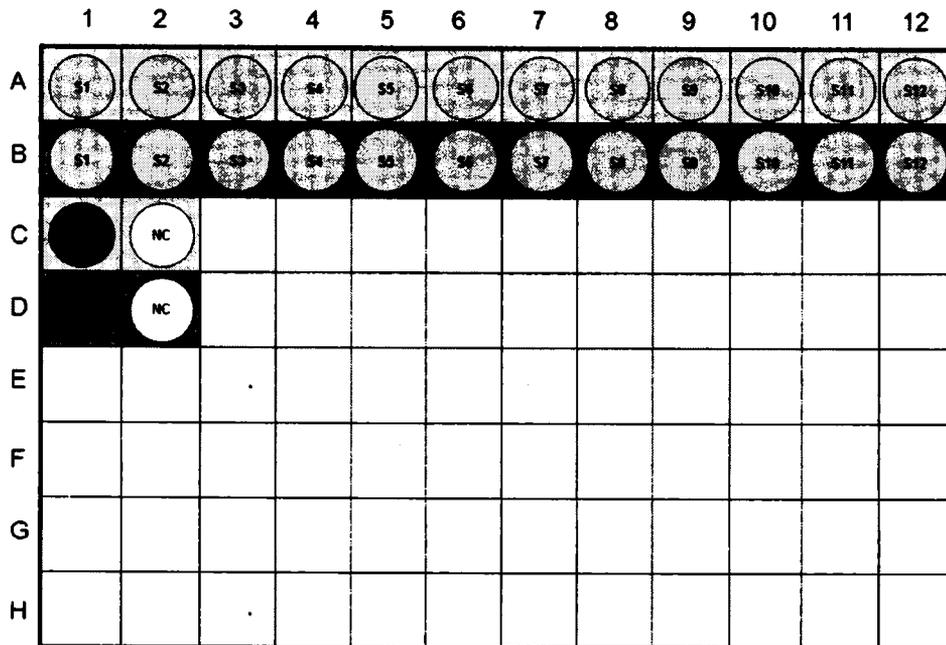


Figura 1: Representación esquemática de un ejemplo para la ubicación de muestras y controles en una placa de 96 pocillos para sistemas ABI® 7500.
 Filas A-H, columnas 1-12= distribución de una placa de 96 pocillos.
 S1, S2, S3, S4... S12= mezcla de reacción + muestras 1-12.
 PC= mezcla de reacción + control positivo (C-D1)
 NC= mezcla de reacción + control negativo (C-D2)
 Fondo amarillo= mezcla de reacción con ZIKV PP (A1-12, C1-2).
 Fondo verde= mezcla de reacción con DG PP (B1-12, D1-2).

12. Programación del termociclador

Preste especial atención a la configuración de los canales:

Tabla 4: Configuración de los canales.

PPmix	Patógeno	Color	Longitud de onda de detección (nm)*
ZIKV	Virus del Zika	Amarillo	550
	Sequi (IC)		670
DG	Virus del Dengue		520
	Virus del Chikungunya		610
	BMV (IC)		670

* Las longitudes de onda de detección indicadas corresponden al sistema ABI® 7500; estas podrían variar ligeramente en otros equipos.

¡NUEVO! Programa 2 de PCR Fast-track mastermix:

A 50 °C, mantener durante 15 minutos

A 94 °C, mantener durante 1 minuto

40 ciclos de: 94 °C durante 8 segundos

60 °C durante 1 minuto

- Para utilizar kits FTD en una sola placa, utilice el programa de PCR Fast-track mastermix 2.
- FTD recomienda el programa 2 optimizado Fast-track mastermix, ya que todas las validaciones se realizan con este programa. De todas formas, sea consciente de que todavía puede emplear el anterior programa de PCR Fast-track mastermix 1.

Programa 1 de PCR Fast-track mastermix:

A 42°C, mantener durante 15 minutos

A 94°C, mantener durante 3 minutos

40 ciclos de: 94°C durante 8 segundos
60°C durante 34 segundos

IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

Encontrará información detallada sobre la programación de los termocicladores en los manuales de instrucciones de los correspondientes instrumentos, que pueden descargarse desde nuestra página web: <http://www.fast-trackdiagnostics.com/resources/thermocycler-setup/>.

NOTAS IMPORTANTES:

Si utiliza el sistema **ABI® 7500**, deberá cambiar la configuración del colorante de referencia pasivo (por defecto, ROX). Una vez asignados los detectores y los procesos a todos los pocillos haga clic en "acabar" para que el software cree el documento de placa. Haga clic en un pocillo, o bien selecciónelo y arrástrelo con el ratón para seleccionar réplicas. Introduzca el nombre de la muestra y cambie la **referencia pasiva** a "**none**" (ninguna).

Si utiliza el sistema **ABI® 7500 Fast**, **NO** seleccione el programa rápido (Fast).

Si utiliza el sistema **RotorGene**, desactive la optimización automática de la ganancia y configure la ganancia de los canales amarillo, naranja, rojo y verde en 5.

Si utiliza el sistema **LightCycler® 480**, deberá realizar una **compensación del color** antes de empezar a utilizar las pruebas FTD. FTD aconseja realizar una nueva compensación del color anualmente y después de cada mantenimiento del aparato. Los reactivos de compensación del color los suministra gratuitamente FTD. Utilice Abs Quant/Fit Points para analizar el experimento. FTD recomienda la utilización de placas de 96 pocillos transparentes.

Si utiliza el sistema **SmartCycler®**, tenga en cuenta que **solo** está validado actualmente en combinación con el **software Life Science 2.0d** de Cepheid, y con **FTD smartmix** (FTD). Si desea utilizar otras enzimas, póngase en contacto con FTD.

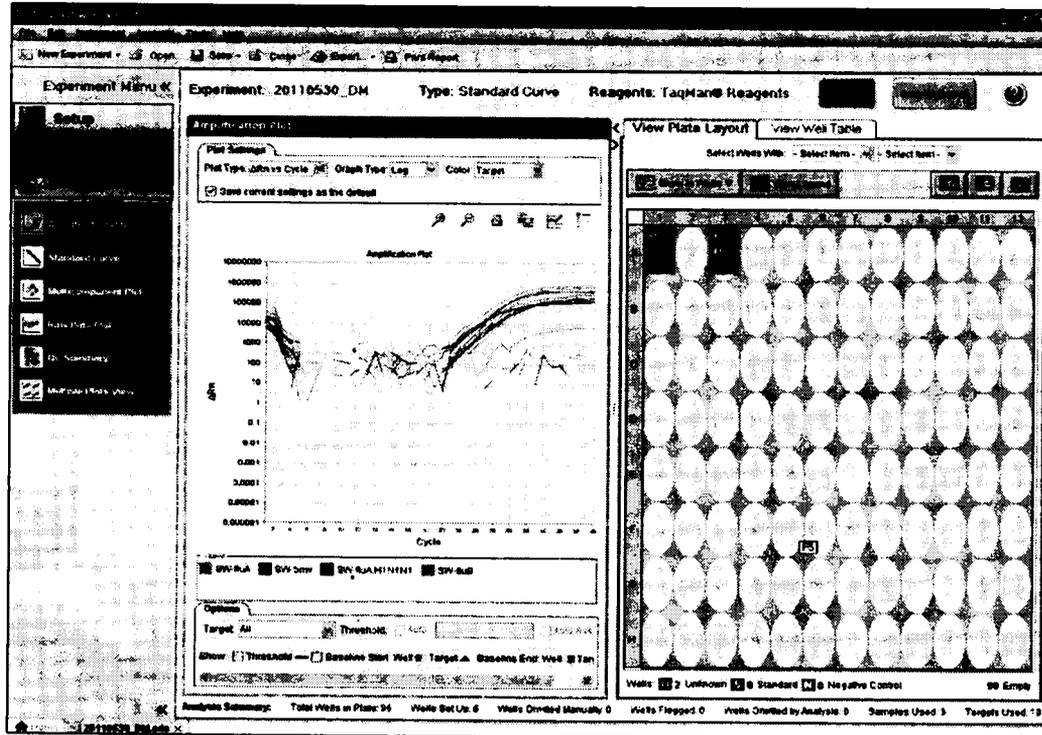
13. Validación del ensayo

Configuración de los umbrales:

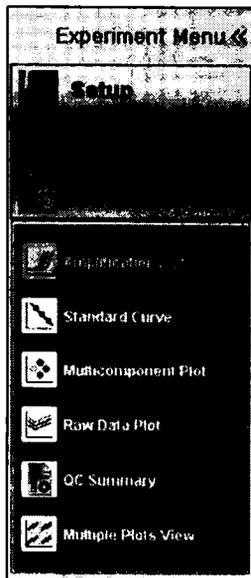
1. Todos los **controles negativos** deben situarse por debajo del umbral. En caso de posible contaminación (aparición de una curva en el control negativo o de un conjunto de curvas en las muestras a valores Ct elevados, por ejemplo de más de 36), los resultados obtenidos no podrán interpretarse y se deberá repetir el proceso completo (extracción incluida).
2. Todos los **controles positivos** deben mostrar una traza de amplificación positiva (es decir, exponencial). Los controles positivos deben dar un valor **Ct inferior a 33** (encontrará información detallada en el apartado "Interpretación de resultados").
3. Verifique la traza "componente" antes de aceptar como real la traza exponencial. Póngase en contacto con el fabricante del equipo o con FTD (support@fast-trackdiagnostics.com) si necesita ayuda.
4. Todos los **controles internos** deben mostrar una traza de amplificación positiva (es decir, exponencial). El control interno debe dar un resultado **Ct inferior a 33**. Un control interno con valor Ct superior a 33 puede indicar la existencia de un problema de purificación o de una muestra fuertemente positiva capaz de inhibir el IC.

14. Análisis en sistemas ABI® 7500

1. Abra su experimento.

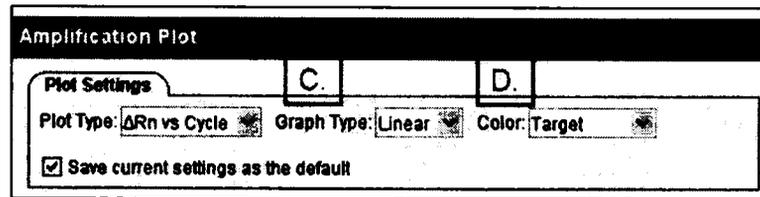


IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

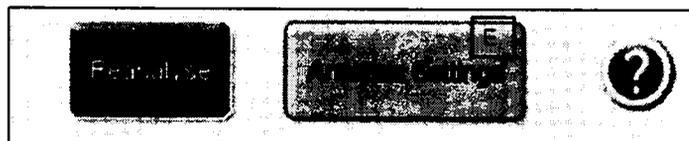


2. En el menú desplegable que aparece a la izquierda, seleccione "Analysis" [análisis] (A.) y "Amplification Plot" [gráfico de amplificación] (B.).

3. Seleccione el tipo de gráfico ("Graph Type" (C.)) que prefiera: "Linear" [lineal] o "Log" [logarítmico] y seleccione "Target" [objetivo] en "Color" (D.).

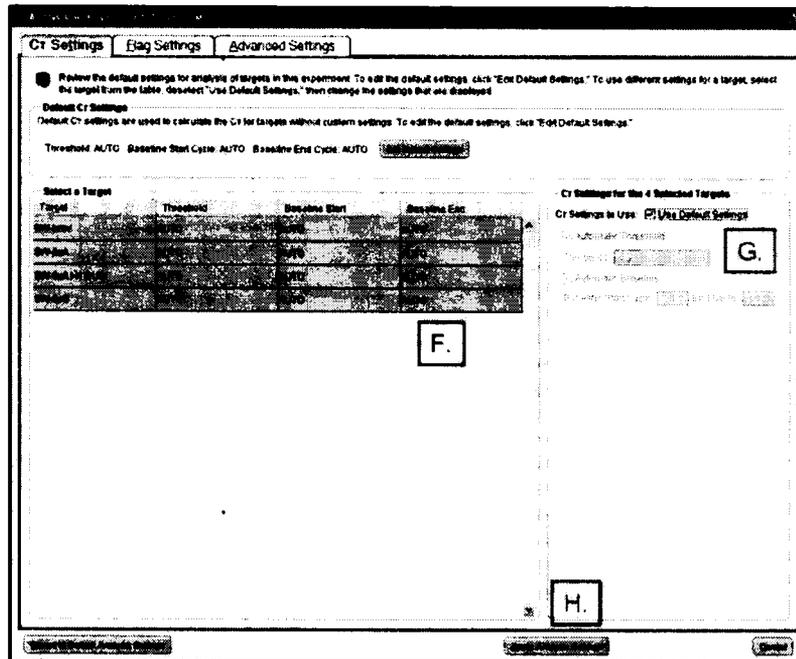


4. Haga clic en "Analysis settings" [configuración de análisis] (E.), en la esquina superior derecha de la pantalla.

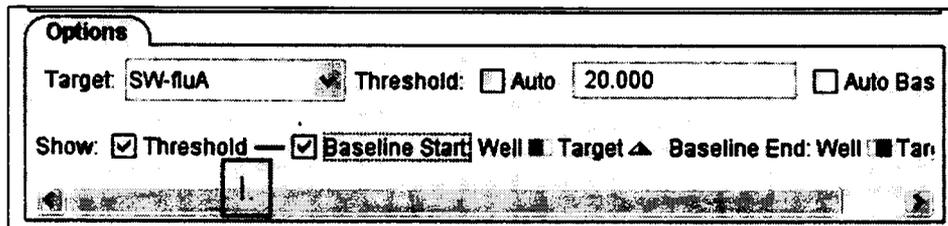


5. Se abrirá una nueva ventana: "Analysis Settings"; seleccione todos los valores objetivo de todas las pruebas (F.).

6. Desmarque las casillas "Use Default Settings" [utilizar configuración por defecto], "Automatic Threshold" [umbral automático] y "Automatic Baseline" [línea basal automática] (G.), y "Apply Analysis Settings" [aplicar configuración de análisis] (H.).



7. Para realizar un análisis avanzado, también puede modificar los ajustes de cada valor objetivo en la ventana de opciones. Esta ventana permite modificar el umbral y la línea de base de todos y cada uno de los parámetros (I.).



8. Verifique en primer lugar los controles positivos, negativos e internos. Deberán cumplir las especificaciones indicadas en el apartado 13 "Validación del ensayo".

9. Si todos los controles se encuentran dentro de los límites seleccionados, compruebe las muestras en busca de trazas positivas.

10. Los resultados de Ct correspondientes a todos los canales de color se mostrarán en la ventana "View Well Table" [ver tabla de pocillos].

IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

Experiment: 20110530_DM Type: Standard Curve Reagents: TaqMan® Reagents

View Plate Layout View Well Table

Select Wells With: Select Item: Select Item:

Well	Oral	Flag	Sample	Target N	Test	Dyes	Ct	Ct Mean	Ct SD	Quantity	Quantity	Quantity	C
A1			SWNE_po	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	27.466			27.466			
A1			SWNE_po	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	27.466			27.466			
A1			SWNE_po	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	27.466			27.466			
A2			SWNE_po	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	26.208			26.208			
A3			AL-ic	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	29.581			29.581			
A3			AL-ic	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	29.581			29.581			
A3			AL-ic	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	29.581			29.581			
A3			AL-ic	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	29.581			29.581			
A3			AL-ic	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	29.581			29.581			
A3			AL-ic	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	29.581			29.581			
A4			AL-ic	SW-NSW	UNKNOWN	VC-NFO-M	29.581			29.581			

15. Interpretación de resultados

El control positivo y todas las muestras positivas deben mostrar una curva de amplificación exponencial. Cuando una muestra presenta un aumento exponencial de la fluorescencia, puede considerarse que es positiva para el patógeno en cuestión. Por ejemplo, si una muestra (por ejemplo, con el DG PP) muestra una curva de fluorescencia exponencial a una longitud de onda ~ 520 (canal verde) significa que contiene ácido nucleico del Virus del Dengue.

16. Solución de problemas

Controles positivos sin señal

- Programación incorrecta del perfil de temperatura en el termociclador
 - Compare el perfil de temperatura con el manual.
- Configuración incorrecta de la reacción de la PCR
 - Verifique los pasos del proceso siguiendo el programa de pipeteado y, en caso necesario, repita la PCR.
 - Compruebe la calibración de las pipetas.
- Procesamiento incorrecto de los controles positivos
 - La agitación vórtex y la descongelación a temperatura ambiente no son las adecuadas o no se han realizado.
- Uno o más de los componentes del producto no se ha(n) almacenado de

IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

acuerdo con las instrucciones o bien el kit FTD ha caducado

- Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad de los reactivos (consulte la etiqueta); utilice una nueva prueba en caso necesario.

Señal del control interno débil o ausente

- Las condiciones de la PCR no se ajustan al protocolo
 - Compruebe las condiciones de la PCR y repita la PCR con la configuración correcta en caso necesario.
- Inhibición de la PCR o bien no se añadió control interno durante la extracción, o resultó insuficiente
 - Asegúrese de que el método de extracción que utiliza sea compatible con los kits FTD.
 - Una señal positiva fuerte de un patógeno a veces puede provocar que se inhiba la fluorescencia de un control interno.

Se obtienen señales con el control negativo

- Se ha producido contaminación durante la preparación de la PCR o durante la extracción
 - Repita la PCR con nuevos reactivos, en varias réplicas.
 - Recomendamos pipetear los controles positivos en último lugar.
 - Asegúrese de que el entorno de trabajo y los instrumentos se descontaminan periódicamente.

Si tiene alguna pregunta o detecta otros problemas, no dude en ponerse en contacto con nosotros: info@tecnolab.com.ar o support@fast-trackdiagnostics.com.

17. Validación

Encontrará datos de validación detallados para la sensibilidad, la especificidad, los estudios clínicos y revisiones externas de calidad para cada kit FTD en www.fast-trackdiagnostics.com.

18. Símbolos

Símbolo	Significado
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Número de referencia
	Número de lote
	Fecha de caducidad
	Suficiente para
	Diagnóstico <i>in vitro</i>
	Límites de temperatura
	Advertencia
	Consultar instrucciones de uso



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2018-02330111-APN-DNPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Lunes 15 de Enero de 2018

Referencia: 1-47-3110-3974-17-9.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 27 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=MINISTERIO DE MODERNIZACION,
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2018.01.15 11:47:18 -03'00'

Mariano Pablo Manenti
Jefe I
Dirección Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -
GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,
o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE
MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT
30715117564
Date: 2018.01.15 11:47:18 -03'00'



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

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

Expediente nº 1-47-3110-3974/17-9

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

Nombre comercial: FTD Zika/Dengue/Chik.

Indicación de uso: Ensayo de PCR multiplex para la detección cualitativa de ARN viral de los virus Zika, Dengue y Chikungunya extraídos desde muestras de suero, plasma y orina de origen humano. Para Dengue y Chikungunya también puede usarse sangre entera.

Forma de presentación: Envases por 32 (64) reacciones, conteniendo ZIKV PP: 1 (2) vial(es) x 48 µl, DG PP: 1 (2) vial(es) x 48 µl, ZIKV PC: 1 (2) vial(es) x 150 µl, DG PC: 1 (2) vial(es) x 150 µl, NC: 1 vial x 2000 (4000) µl, IC: 1 (2) vial(es) x 128 µl, Enzyme: 1 (2) vial(es) x 64 µl, Buffer: 1 (2) vial(es) x 800 µl.

Período de vida útil y condición de conservación: DOCE (12) meses desde la fecha de elaboración, conservado a -20 °C.

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

Nombre y dirección del fabricante: Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l., 29, rue Henri Koch, L-4354 Esch-sur-Alezette (LUXEMBURGO).

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO
PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-1252-141.

Disposición N° **001554** **19 FEB 2018**


DR. ROBERTO LLUC
Subsecretario Nacional
S. N. M. A. P.

Se extiende
PARA EL
D. N. S. P.

Se extiende
PARA EL
D. N. S. P.