



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001003-23-7

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-001003-23-7 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones SIEMENS HEALTHCARE 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, Nombre descriptivo: 1) FTD Viral Meningitis; 2) FTD Vesicular rash.

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 modificatorias.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Nombre descriptivo: 1) FTD Viral Meningitis; 2) FTD Vesicular rash, de acuerdo con lo solicitado por SIEMENS HEALTHCARE 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 GEDO N° IF-2023-65117661-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 1074-869 ", 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: 1) FTD Viral Meningitis; 2) FTD Vesicular rash

Marca comercial: N/A

Modelos:

N/A

Indicación/es de uso:

1) prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la detección y la diferenciación de ácidos nucleicos víricos específicos en líquido cefalorraquídeo (LCR) de origen humano como una ayuda para el diagnóstico de infecciones causadas por virus del herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), virus de paperas (MuV), virus de la varicela zóster (VZV), enterovirus (EV) y parecovirus humano (HPeV).

2) prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la detección y la diferenciación de ácidos

nucleicos de víricos específicos en muestras de hisopados vesiculares de origen humano como ayuda en el diagnóstico de infecciones causadas herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) y virus de la varicela zóster (VZV).

Forma de presentación: 1)

a) Envase para 32 reacciones compuesto por: 1 x 48µReactivo VM1 PP Mix;1 x 48µReactivo EPA PP Mix; 1 x 300 µReactivo VirMeng PC; 1 x 2000 µNegative Ctrl;1 x 128 µInternal Ctrl; 1 x 64 µMezcla Enzimática 25x RT-PCR Enz; 1 x 800 µTampón 2x RT-PCR Buff

b) Envase para 64 reacciones compuesto por: 2 x 48µ Reactivo VM1 PP Mix; 2 x 48µReactivo EPA PP Mix; 2 x 300 µReactivo VirMeng PC ;1 x 4000 µNegative Ctrl ; 2 x 128 µInternal Ctrl ; 2 x 64 µMezcla enzimática 25x RT-PCR Enz. ;2 x 800 µTampón 2x RT-PCR Buff

2)

a) Envase para 32 reacciones compuesto por: 1 x 48µde Reactivo Vesic PP Mix ;1 x 150µde Reactivo Vesic PC;1 x 2000 µde Negative Ctrl;1 x 128 µde Internal Ctrl ;1 x 32 µde Mezcla Enzimática 25x RT-PCR Enz. ;1 x 400 µ de Tampón 2x RT-PCR Buff

b) Envase para 64 reacciones compuesto por: 2 x 48µde Reactivo Vesic PP Mix ;2 x 150µde Reactivo Vesic PC;1 x 4000 µde Negative Ctrl;2 x 128 µde Internal Ctrl ;2 x 32 µde Mezcla Enzimática 25x RT-PCR Enz. ;2 x 400 µ de Tampón 2x RT-PCR Buff

Período de vida útil y condición de conservación: 1) y 2) 24 meses a -30 a -10°C

Nombre del fabricante:

Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l.

Lugar de elaboración:

29, rue Henri Koch L-4354 Esch-sur-Alzette, LUXEMBURGO.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-001003-23-7

N° Identificadorio Trámite: 46205

AM

SOBRERRÓTULO

Ver instrucciones de uso

"USO PROFESIONAL EXCLUSIVO -VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS"

Importado por: SIEMENS HEALTHCARE S.A. Deposito: Calle 122 (ex Gral Roca) 4785/4817, Localidad de Villa Ballester, Partido de San Martin Prov. de Buenos Aires. Legajo N° 1074

Director Técnico: Farm. Ignacio Oscar Fresa M.P. 19.565

Autorizado por ANMAT - PM 1074- 869

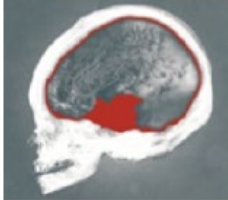


Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica
Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498/ Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A

Proyecto de Rótulos Externos

1) FTD Viral meningitis

Fast Track >>>
DIAGNOSTICS
A Siemens Healthineers Company



FTD Viral meningitis



siemens.com/eifu



REF 10921724 (FTD-13.1-32)

i 11414197 Rev. D

LOT VMY-32-00

YY YYYY-MM-DD

MM YYYY-MM-DD

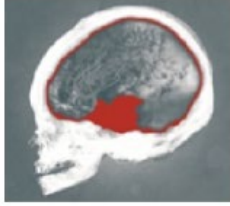
Fast Track Diagnostics
Luxembourg S.à.r.l.; 29, rue Henri
Koch; L-4354 Esch-sur-Alzette;
Luxemburg



VM1 PP Mix: 13Vm1-YYMMDD00 (1x 48µl)
EPA PP Mix: 23Epa-YYMMDD00 (1x 48µl)
VirMeng PC: 13PC-YYMMDD00 (1x 300µl)
Negative Ctrl: NC-YYMMDD00 (1x 2000µl)
Internal Ctrl: IC-YYMMDD00 (1x 128µl)
25x RT-PCR Enz.: E64-YYMMDD00 (1x 64µl)
2x RT-PCR Buff.: B800-YYMMDD00 (1x 800µl)

Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica

Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498/ Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A



FTD Viral meningitis



WARNING

H317
P280
P302+P352
P333+P313
P362+P364

siemens.com/eifu



REF 10921725 (FTD-13.1-64)

i 11414197 Rev. D

LOT VMYY-64-00

W YYYY-MM-DD

H YYYY-MM-DD

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



VM1 PP Mix: 13Vm1-YYMMDD00 (2x 48µl)
EPA PP Mix: 23Epa-YYMMDD00 (2x 48µl)
VirMeng PC: 13PC-YYMMDD00 (2x 300µl)
Negative Ctrl: NC+-YYMMDD00 (1x 4000µl)
Internal Ctrl: IC-YYMMDD00 (2x 128µl)
25x RT-PCR Enz.: E64-YYMMDD00 (2x 64µl)
2x RT-PCR Buff.: B800-YYMMDD00 (2x 800µl)

Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica

Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498/ Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A

PROYECTO DE ROTULOS EXTERNOS

2) FTD Vesicular rash

Fast Track 
DIAGNOSTICS
A Siemens Healthineers Company



FTD Vesicular rash



WARNING

H317
P280
P302+P352
P333+P313
P362+P364

 siemens.com/eifu



REF 10921714 (FTD-7.1-32)

i 11414195 Rev. C

LOT VEYY-32-00

YYYY-MM-DD

YYYY-MM-DD

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



Vesic PP Mix: 7Ves-YYMMDD00 (1x 48µl)

Vesic PC: 7PC-YYMMDD00 (1x 150µl)

Negative Ctrl: NC-YYMMDD00 (1x 2000µl)

Internal Ctrl: IC-YYMMDD00 (1x 128µl)

25x RT-PCR Enz.: E32-YYMMDD00 (1x 32µl)

2x RT-PCR Buff.: B400-YYMMDD00 (1x 400µl)


Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica

Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498 / Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A

Fast Track 
DIAGNOSTICS
A Siemens Healthineers Company




FTD Vesicular rash



WARNING

H317
P280
P302+P352
P333+P313
P362+P364

 siemens.com/eifu



REF 10921715 (FTD-7.1-64)

 11414195 Rev. C

LOT VEYY-64-00

 YYYY-MM-DD

 YYYY-MM-DD

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



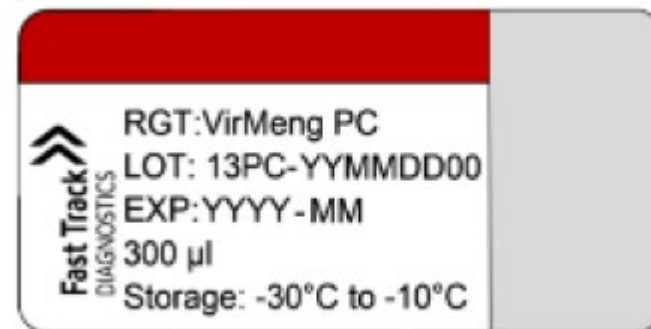
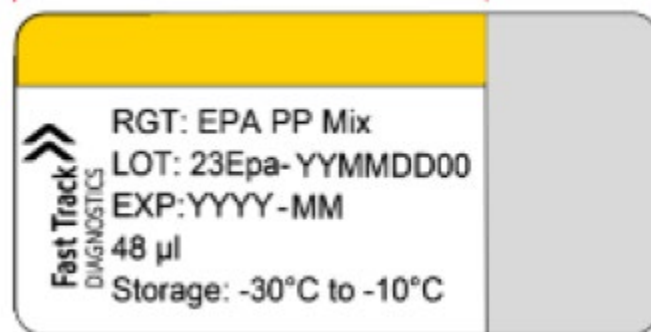
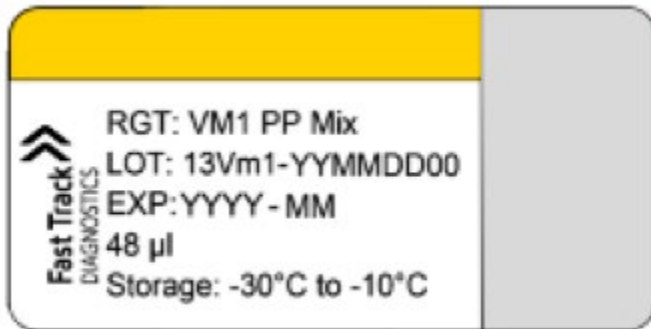
Vesic PP Mix: 7Ves-YYMMDD00 (2x 48µl)
Vesic PC: 7PC-YYMMDD00 (2x 150µl)
Negative Ctrl: NC+-YYMMDD00 (1x 4000µl)
Internal Ctrl: IC-YYMMDD00 (2x 128µl)
25x RT-PCR Enz.: E32-YYMMDD00 (2x 32µl)
2x RT-PCR Buff.: B400-YYMMDD00 (2x 400µl)


Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica

Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498 / Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A

Proyectos de Rótulos internos

1) FTD VIRAL MENINGITIS



Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica
Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / **Co Directora Técnica**
DNI 16.894.498/ **Apoderada Legal**
Siemens Healthcare S.A



RGT: Negative Ctrl
LOT: NC-YYMMDD00
EXP: YYYY-MM
2000 µl
Storage: -30°C to -10°C



RGT: Negative Ctrl
LOT: NC+-YYMMDD00
EXP: YYYY-MM
4000 µl
Storage: -30°C to -10°C



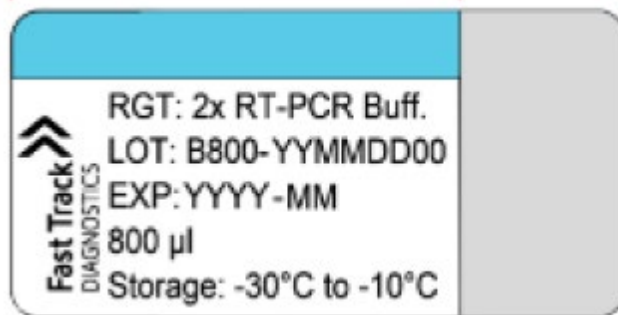
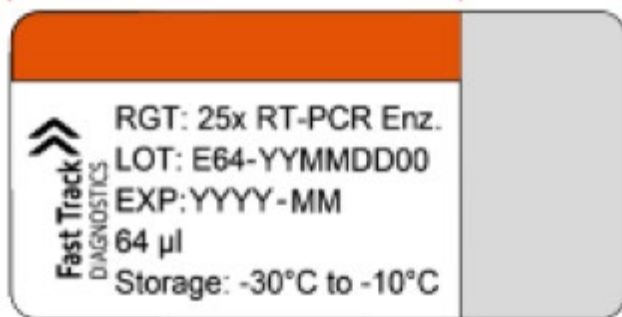
RGT: Internal Ctrl
LOT: IC-YYMMDD00
EXP: YYYY-MM
128 µl



Storage: -30°C to -10°C

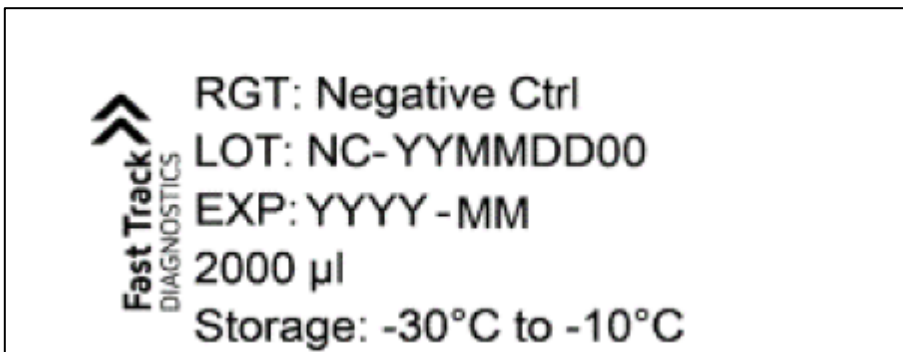
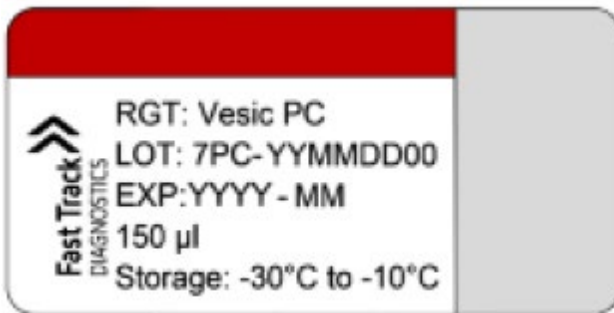
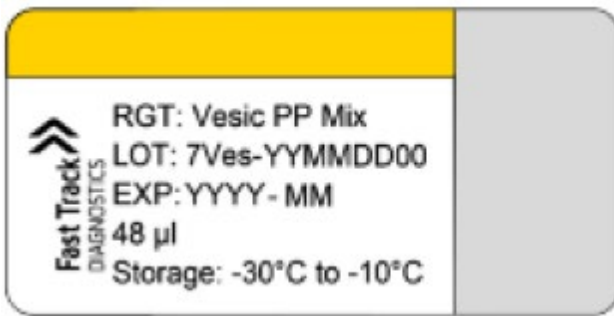

Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica


Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498/ Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A





Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica
Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / **Co Directora Técnica**
DNI 16.894.498/ **Apoderada Legal**
Siemens Healthcare S.A

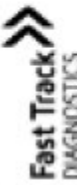
2) FTD VESICULAR RASH / ROTULOS INTERNOS





 RGT: Negative Ctrl
LOT: NC+-YYMMDD00
EXP: YYYY-MM
4000 µl
Storage: -30°C to -10°C

 RGT: Internal Ctrl
LOT: IC-YYMMDD00
EXP: YYYY-MM
128 µl

Storage: -30°C to -10°C

 RGT: 25x RT-PCR Enz.
LOT: E32-YYMMDD00
EXP: YYYY-MM
32 µl
Storage: -30°C to -10°C

 RGT: 2x RT-PCR Buff.
LOT: B400-YYMMDD00
EXP: YYYY-MM
400 µl
Storage: -30°C to -10°C

FTD™ Viral meningitis

Fecha y revisión actuales	11414197_es Rev. D, 2021-07		
Nombre del producto	FTD Viral meningitis (FTD-13.1-32)	[REF] 10921724	
	FTD Viral meningitis (FTD-13.1-64)	[REF] 10921725	
Tipos de muestra	Líquido cefalorraquídeo		
Volumen de muestra procesado	200 µl requerido		

FTD Viral meningitis se validó con el sistema de PCR en tiempo real Applied Biosystems® 7500 de ThermoFisher (ThermoFisher Scientific) y el NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux).

Contenido

Uso previsto	2
Resumen y explicación	2
Patógenos	3
Principios del procedimiento	5
Método	5
Reactivos	6
Advertencias y precauciones	6
Conservación y manipulación	7
Recogida y manipulación de las muestras	8
Recogida de la muestra	8
Conservación y transporte de la muestra	9
Procedimiento	10
Materiales suministrados	10
Materiales necesarios pero no suministrados	11
Procedimiento del ensayo	12
Criterios para un análisis válido	16
Resultados	16
Interpretación de los resultados	16
Limitaciones	21
Características de rendimiento	22
Sensibilidad analítica	22
Inclusividad	28
Precisión	29

Sustancias interferentes.....	30
Rendimiento clínico	31
Resolución de problemas	32
Asistencia técnica	33
Referencias	33
Definición de los símbolos	35
Información legal	36

Uso previsto

FTD Viral meningitis es una prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la detección y la diferenciación de ácidos nucleicos víricos específicos en líquido cefalorraquídeo (LCR) de origen humano.

La prueba está concebida como una ayuda para el diagnóstico de infecciones causadas por virus del herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), virus de paperas (MuV), virus de la varicela zóster (VZV), enterovirus (EV) y parecovirus humano (HPEV).

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Resumen y explicación

Las meningitis víricas son la causa más frecuente de inflamación en el tejido que recubre el cerebro y la médula espinal. Las personas de todas las edades tienen riesgo de contraer meningitis vírica. La enfermedad grave es más frecuente en las personas con un sistema inmunitario debilitado. La transmisión se produce por estrecho contacto con personas infectadas. A pesar de la infección, la meningitis solo se manifiesta en un pequeño número de personas que se infectan con cualquiera de los virus que se sabe que causan meningitis.¹ Los síntomas en niños y adultos infectados por meningitis vírica incluyen: fiebre, cefalea, náuseas, vómitos, letargo, y sensibilidad a la luz brillante.¹

El diagnóstico de meningitis debe realizarse a través de pruebas de laboratorio específicas con muestras recogidas de personas que se sospeche que tienen esta infección vírica.¹

FTD Viral meningitis se ha diseñado para identificar simultáneamente los virus que causan meningitis con más frecuencia.



Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica
Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498/ Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A

Patógenos

Se sabe que los **enterovirus (EV)** provocan enfermedades febriles autolimitantes en lactantes y niños pequeños, pero también pueden causar brotes graves de infecciones neurológicas y respiratorias. EV se considera actualmente como la causa más frecuente de meningitis, mielitis y parálisis en pacientes.² EV pertenece al género *Enterovirus* de la familia de virus *Picornaviridae*, y contiene un genoma de ácido ribonucleico (ARN) monocatenario de sentido positivo.^{2,3} El EV responsable de las infecciones en humanos se clasifica en cuatro especies (A a D) según su divergencia genética. El EV más conocido incluye los virus de la poliomielitis, coxsackievirus, ecovirus y otros enterovirus.^{2,3} La transmisión de EV se produce por vía fecal-oral o respiratoria, con períodos de incubación de 3-21 días de duración antes de que aparezcan los síntomas. La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) es una de las pruebas recomendadas para el diagnóstico de EV, debido a su capacidad para detectarlo con especificidad y sensibilidad, y producir resultados en poco tiempo.²

FTD Viral meningitis detecta las especies A-D de EV (consulte el apartado *Características de rendimiento – Inclusividad* en la página 28).

Los **virus del herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2)** son virus encapsulados de ácido desoxirribonucleico bicatenario (ADNbc) de la familia *Herpesviridae*. Estos virus establecen infecciones crónicas de por vida en los seres humanos. La infección inicial por HSV es con frecuencia clínicamente silenciosa, pero una mezcla de virus permanece latente en las neuronas periféricas y, cuando se reactiva, causa infecciones recurrentes en el huésped. La capacidad para reactivarse del estado latente al ciclo de replicación facilita la transmisión del HSV a nuevos huéspedes, a través del proceso de propagación vírica.⁴ La gravedad de la reactivación del HSV puede dar con frecuencia a una morbimortalidad importante, en especial en personas inmunodeprimidas; esto incluye infecciones del sistema nervioso central que provocan encefalitis vírica o meningitis linfocítica.⁴ La transmisión del HSV-2 ocurre principalmente por contacto sexual con una persona infectada, mientras que el HSV-1 se adquiere a través de secreciones bucales, como una infección de la mucosa durante la infancia. En los últimos años, cada vez más se notifican más casos de infecciones de transmisión sexual causadas por el HSV-1.⁵ Las infecciones por HSV conllevan un alto riesgo para las mujeres, especialmente durante el embarazo, ya que aumentan el riesgo de aborto espontáneo, parto prematuro y muerte fetal.⁶

FTD Viral meningitis detecta el HSV-1 y HSV-2 (consulte el apartado *Características de rendimiento – Inclusividad* en la página 28).

El **parecovirus humano (HPeV)** es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo que pertenece al género *Parechovirus* (dividido en dos especies: Parechovirus A y B) de la familia *Picornaviridae*.^{1,7} El parecovirus A se subdivide en 19 genotipos distintos (HPeV-1 a HPeV-19)⁷; entre ellos, HPeV-1 y HPeV-3 son los genotipos de HPeV detectados con más frecuencia en todo el mundo.⁸ Las infecciones por parecovirus humano (HPeV) suelen ser asintomáticas, pero también se asocian a una amplia variedad de cuadros clínicos que van desde infecciones respiratorias y gastrointestinales leves, a enfermedades graves como septicemia y meningitis, especialmente en recién nacidos.⁹ Si bien el HPeV-1 se asocia habitualmente a síntomas respiratorios y gastrointestinales, la infección por HPeV-3 se ha relacionado con enfermedad similar a septicemia y meningitis en niños pequeños. El HPeV-3 es uno de los patógenos emergentes más importantes al que deben prestar atención los pediatras debido a la gravedad de la enfermedad.¹⁰

FTD Viral meningitis detecta los subtipos 1-8, 10, 14 y 16-18 del HPeV (consulte el apartado *Características de rendimiento – Inclusividad* en la página 28).

El **virus de las paperas (MuV)** es un virus de ARN monocatenario de sentido negativo que pertenecen a la familia *Paramyxoviridae* y el género *Rubulavirus*. Aunque solo hay un serotipo, se han descrito 12 genotipos (A a D, F a L y N); el genotipo A es el más divergente.¹¹ Se sabe que el MuV tiene múltiples tropismos, principalmente epiteliales y glandulares, pero también neurológicos. La forma clásica de paperas suele ser una enfermedad leve que se caracteriza por una inflamación dolorosa de las glándulas parótidas, pero también puede afectar a muchos otros órganos y tejidos, produciendo una gran variedad de reacciones inflamatorias, como encefalitis, meningitis, nefritis y sordera.¹¹ Las paperas pueden transmitirse por contaminación respiratoria con gotas infectadas (p. ej., saliva).¹¹

FTD Viral meningitis detecta todos los genotipos de MuV, con excepción del genotipo B (consulte el apartado *Características de rendimiento – Inclusividad* en la página 28).

El **virus de la varicela zóster (VZV)** es un virus de ADN bicatenario lineal que pertenece a la subfamilia α de la familia *Herpesviridae*. Se sabe que el virus tiene al menos siete clades (1-6 y 9).¹² VZV es el agente etiológico de la varicela, un exantema muy contagioso, frecuente sobre todo durante la infancia tras la infección primaria con el virus. La reactivación del virus que persiste de forma latente en los ganglios sensoriales dorsales, causa herpes zóster (culebrilla) en las personas infectadas. Durante la reactivación, el VZV produce herpes zóster, una erupción dolorosa de un exantema,¹³ y, en raras ocasiones, provoca también complicaciones neurológicas como meningitis, sin exantema.¹⁴ La varicela es muy contagiosa y se considera una de las enfermedades exantemáticas más frecuentes.¹⁴ Los estudios han demostrado el éxito continuado de una vacuna de VZV vivos atenuados (vacuna vOka) para la prevención de la varicela y herpes zóster.^{12,15}

FTD Viral meningitis detecta las clades 1-6 y 9 del VZV (consulte el apartado *Características de rendimiento – Inclusividad* en la página 28).



Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica
Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498/ Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A

Principios del procedimiento

Método

Esta prueba es un proceso basado en la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) para la detección de patógenos en muestras humanas.

En una primera fase, los ácidos nucleicos deben extraerse de los tipos de muestras indicados en el apartado *Uso previsto*, con la adición del control interno (IC).

El eluido con los ácidos nucleicos purificados de los patógenos se añade a una mezcla maestra para activar el proceso de RT-PCR. La mezcla maestra contiene enzima, tampón, desoxirribonucleótido trifosfato (dNTP), cebadores y sondas sintéticos específicos para las secuencias diana. La ventaja de utilizar varios pares de cebadores/sondas en una única mezcla de reacción es detectar simultáneamente diferentes dianas en una reacción.

En presencia de la diana, los cebadores y las sondas se hibridarán con la secuencia específica y permitirán la amplificación por la polimerasa. Las diferentes sondas incluyen colorantes fluorescentes y desactivadores de fluorescencia en estrecha proximidad, lo que limita la fluorescencia emitida. Sin embargo, durante la amplificación, la polimerasa extiende la nueva cadena y degrada la sonda marcada con el colorante fluorescente, gracias a su actividad de exonucleasa. Esto separa el colorante fluorescente del desactivador de fluorescencia, lo que permite la emisión de la fluorescencia.

El nivel de fluorescencia aumenta con la generación de amplicones y es proporcional a la cantidad de ácidos nucleicos del patógeno contenidos en la muestra. El termociclador en tiempo real notifica el aumento del nivel de fluorescencia como un valor de umbral de ciclo (Ct).

El ensayo utiliza el virus del mosaico del bromo (BMV) como control interno (IC), que se introduce en cada muestra y en el control negativo (NC) durante el proceso de extracción. El IC se extrae, se procesa y se amplifica simultáneamente con cada muestra, con el fin de monitorizar el proceso de extracción y poder identificar la inhibición de la PCR.

El NC también se procesa como una muestra (extracción y RT-PCR) y confirma la ausencia de contaminación.

El kit de FTD Viral meningitis también contiene un control positivo (PC), que se añade a cada análisis de RT-PCR. El PC monitoriza el proceso de RT-PCR y el rendimiento de los cebadores y las sondas.



Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica
Farm. Ma Gabriela Gobet
M.P. 21577 / Co Directora Técnica
DNI 16.894.498/ Apoderada Legal
Siemens Healthcare S.A

Reactivos

Advertencias y precauciones

Las fichas de datos de seguridad (SDS) pueden obtenerse en siemens-healthineers.com. Es necesario cumplir estrictamente las siguientes advertencias y precauciones al utilizar FTD Viral meningitis.



WARNING (ATENCIÓN)

El IC contiene tampón de lisis.



WARNING (ATENCIÓN)

Tampón de lisis:

Ingrediente peligroso: Ácido maleico (0,1 % [w/w])

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

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

P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P362+P364: Quitarse y lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.

Requisitos para la manipulación

- El uso de este producto debe limitarse al personal formado en las técnicas de PCR.
- Tome las precauciones habituales necesarias para la manipulación de todos los reactivos de laboratorio.
- **Para muestras de pacientes solamente:**
 - Desinfecte los vertidos de inmediato con una solución de hipoclorito sódico al 0,5 % (1:10 v/v de lejía) o un desinfectante equivalente.
- **Para todos los reactivos:**
 - Desinfecte los vertidos de inmediato con Microcide SQ. No utilice lejía.
- Trate el material contaminado como biopeligroso.
- Durante el procedimiento del ensayo, use equipo de protección personal, incluidos guantes desechables. Lávese bien las manos después de quitarse los guantes y deseche los guantes como residuo biopeligroso.
- Cámbiese los guantes con regularidad para reducir al mínimo el riesgo de contaminación por arrastre.

- NO:
 - Coma, beba, fume ni se aplique cosméticos en las zonas donde se manipulen los reactivos o las muestras.
 - Pipetee con la boca.
 - Utilice los reactivos si están turbios después de equilibrarlos a la temperatura especificada.
 - Utilice los componentes después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del kit.
 - Intercambie las tapas de los viales o frascos, ya que podría producirse contaminación cruzada.
- Evite el uso de objetos afilados siempre que sea posible.
 - Si se expone la piel o la membrana mucosa a los materiales, lave inmediatamente la zona con abundante agua y acuda a un médico.
- Utilice todos los instrumentos y dispositivos de pipeteo con cuidado, y siga las instrucciones del fabricante para la calibración y el control de calidad.
- Evite la contaminación de los reactivos y las muestras.
 - Utilice puntas de pipeta resistentes a los aerosoles, y use una punta nueva cada vez que se dispense un volumen.
- No mezcle reactivos de kits con diferente número de lote.
- Deseche los materiales peligrosos o biológicamente contaminados de acuerdo con las prácticas del centro. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable, de conformidad con todos los requisitos normativos nacionales, regionales y locales.

Conservación y manipulación

Conserve los componentes de este producto FTD en su envase original, a una temperatura de -30 °C a -10 °C. Los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja exterior.

Congele el producto inmediatamente después de usarlo. Los reactivos admiten hasta 10 ciclos de congelación-descongelación.

Recogida y manipulación de las muestras

En este apartado se describen las prácticas generales del sector para la manipulación y conservación de muestras de LCR que ayudan a obtener resultados exactos con las pruebas.

Esta prueba está concebida para utilizarse con ácidos nucleicos extraídos de muestras de LCR de origen humano.

La detección de patógenos depende de la recogida de muestras de alta calidad, su transporte rápido al laboratorio, y su conservación y tratamiento adecuados antes de realizar las pruebas de laboratorio. Lleve la muestra al laboratorio inmediatamente después de su recogida y procésela/analícela tan pronto como sea posible, ya que varios patógenos son sensibles a los factores externos. Etiquete todas las muestras debidamente y de acuerdo con el procedimiento de laboratorio. La manipulación correcta de las muestras es muy importante para evitar la degradación del ADN/ARN vírico (según las recomendaciones de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades [CDC]¹⁶).



CAUTION (PRECAUCIÓN)

Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes potencialmente infecciosos.

Siga las precauciones universales, como el uso de equipo de protección personal y guantes desechables. Lávese bien las manos después de quitarse los guantes y deseche los guantes como residuo biopeligroso.

Recogida de la muestra

Recoja todas las muestras de acuerdo con la técnica estándar del laboratorio o el médico.

LCR

El procedimiento de punción lumbar debe ser realizado por personal con experiencia y en condiciones asépticas. Se trata de un procedimiento invasivo que conlleva la preparación del paciente. Siga el procedimiento del laboratorio/hospital para la punción lumbar. El LCR debe recogerse en un recipiente estéril y a prueba de fugas (p. ej., 1 mililitro [ml] por tubo).

Conservación y transporte de la muestra

El LCR debe procesarse de inmediato, pero no más de 4 horas después de la recogida. Mantenga las muestras de LCR enfriadas en hielo húmedo después de la recogida. Si la muestra no puede procesarse en un plazo de 4 cuatro horas, deberá congelarse a -70 °C para su conservación a largo plazo (como recomiendan los CDC¹⁶ o el Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI] MM13-A¹⁷). Las muestras congeladas deben transportarse en hielo seco. No refrigere la(s) muestra(s) de LCR.

NOTAS:

- Las indicaciones anteriores de almacenamiento y envío de las muestras son solo recomendaciones. Consulte las normativas locales y las políticas del centro.
- Embale y etiquete la muestra de conformidad con las normativas locales e internacionales relativas al transporte de muestras clínicas y agentes etiológicos.

Procedimiento

Materiales suministrados

En la Tabla 1 se especifican los componentes de FTD Viral meningitis.

Tabla 1: Componentes de FTD Viral meningitis

Reactivo	Composición	Descripción/Cantidad	Conservación
VM1 PP Mix	Oligonucleótidos sintéticos, tampón	Mezcla PP para HSV-1, HSV-2, MuV y VZV 32 reacciones: 1 x 48 µl 64 reacciones: 2 x 48 µl	Entre -30 °C y -10 °C
EPA PP Mix		Mezcla PP para EV, HPeV y el IC 32 reacciones: 1 x 48 µl 64 reacciones: 2 x 48 µl	
VirMeng PC	Moléculas de ADN bicatenario circular, tampón, agentes estabilizantes	Mezcla de plásmidos para HSV-1, HSV-2, MuV, EV, HPeV y VZV 32 reacciones: 1 x 300 µl 64 reacciones: 2 x 300 µl	
Negative Ctrl	Agua sin nucleasas	— 32 reacciones: 1 x 2000 µl 64 reacciones: 1 x 4000 µl	
Internal Ctrl	Moléculas de ADN bicatenario circular, tampón, cloruro de guanidinio al <5,0 %, ácido maleico al <0,1 %	— 32 reacciones: 1 x 128 µl 64 reacciones: 2 x 128 µl	
25x RT-PCR Enz.	Enzimas, tampón, glicerol, inhibidores de la ribonucleasa (RNasa), agentes estabilizantes	Mezcla enzimática para RT-PCR, 25x 32 reacciones: 1 x 64 µl 64 reacciones: 2 x 64 µl	
2x RT-PCR Buff.	Tampón Tris-ácido clorhídrico (Tris-HCl), desoxiadenosina trifosfato (dATP), desoxicidina trifosfato (dCTP), desoxiguanosina trifosfato (dGTP), desoxitimidina trifosfato (dTTP), adyuvantes de la PCR	Tampón para RT-PCR, 2x 32 reacciones: 1 x 800 µl 64 reacciones: 2 x 800 µl	

Leyenda: PP = cebador/sonda, PC = control positivo, Ctrl = Control, Enz. = Enzima, Buff. = Tampón

Cada vial contiene volumen adicional para la imprecisión del pipeteo. El número de lote se indica en la caja y en cada vial.

Los reactivos de los kits son suficientes para 32 o 64 reacciones. Cada kit incluye componentes de IC, NC y PC.

REF	Contenido	Número de reacciones
10921724 (FTD-13.1-32)	FTD Viral meningitis	32
10921725 (FTD-13.1-64)	FTD Viral meningitis	64

Materiales necesarios pero no suministrados

El kit se validó en el Applied Biosystems® 7500, utilizando NucliSENS® easyMAG® como método de extracción.

Para la extracción con NucliSENS® easyMAG® se necesitan los reactivos siguientes:

N.º de referencia del proveedor	Contenido
280133	NucliSENS® easyMAG®, Magnetic Silica Beads
280134	NucliSENS® easyMAG®, Lysis Buffer
280130	NucliSENS® easyMAG®, Extraction Buffer 1
280131	NucliSENS® easyMAG®, Extraction Buffer 2
280132	NucliSENS® easyMAG®, Extraction Buffer 3
280135	NucliSENS® easyMAG®, Disponibles
N/A	Agua sin nucleasas

NOTA: Póngase en contacto con el fabricante (bioMérieux) para obtener información específica sobre los números de referencia.

Consumibles y equipo general de laboratorio

- Micropipeta ajustable con capacidad para dispensar 1000 µl, 200 µl, 100 µl, 20 µl y 10 µl
- Puntas de pipeta desechables y resistentes a los aerosoles, envasadas estériles
- Guantes sin talco desechables
- Mezclador vórtex
- Centrífuga de sobremesa
- Gradilla de muestras
- Dispositivos/material de recogida de muestras
- Lejía/Microcide (u otro producto, de acuerdo con el procedimiento de limpieza de laboratorio)
- Placas de 96 pocillos para PCR y selladores de placa
- Tubos

Procedimiento del ensayo

Extracción con el sistema NucliSENS® easyMAG®

Para preparar la muestra:

1. Descongele el control negativo (NC) y el control interno (IC).
2. Antes de usarlos, asegúrese de que los reactivos hayan alcanzado la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C); mezcle el NC y el IC (mediante agitación breve en vórtex) y centrifugue brevemente.
3. Prepare las muestras para el procedimiento de extracción (descongele a temperatura ambiente, si procede).

La Tabla 2 muestra los volúmenes recomendados.

Tabla 2: Volúmenes de extracción recomendados

Tipo	Volumen
Volumen de muestra	200 µl
Volumen de elución	55 µl

4. Añada las muestras a los componentes desechables.
5. Programe la máquina según corresponda.
6. Seleccione **DISPENSE LYSIS (DISPENSAR LISIS)** para que se dispense el tampón de lisis y para iniciar el paso de incubación. Durante el periodo de incubación, prepare las microesferas como se describe en el manual de NucliSENS® easyMAG®.
7. Una vez que finalice la incubación, añada 2 µl de IC directamente a la mezcla de tampón de lisis y muestra.
8. Añada microesferas a cada pocillo del componente desechable y realice el protocolo de extracción.



CAUTION (PRECAUCIÓN)

- No añada nunca el IC antes de añadir el tampón de lisis.
- No añada nunca el IC después de la extracción.
- La adición del IC a cada una de las muestras y al NC es un paso importante para monitorizar la extracción de los ácidos nucleicos y la inhibición de la amplificación de los ácidos nucleicos.
- No extraiga el control positivo.

Preparación de la PCR en tiempo real

Preparación de un experimento para el Applied Biosystems® 7500

Para preparar el experimento:

1. Antes de usarlos, los reactivos deben descongelarse por completo, mezclarse (mediante agitación breve en vórtex) y centrifugarse brevemente.

Excepción:

- La enzima para RT-PCR 25x debe almacenarse entre -30 °C y -10 °C, o en un bloque de enfriamiento en todo momento.
- Control positivo: Descongele el PC y consérvelo a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) durante 20 a 30 minutos. Agite bien el PC en un mezclador vórtex antes de usarlo.

Tabla 3: Volumen de reactivos necesario para 1, 9, 32 y 64 reacciones

Número de reacciones	1	9	32	64
Tampón para RT-PCR, 2x	12,5 µl	112,5 µl	400 µl	800 µl
Mezcla de cebador/sonda	1,5 µl	13,5 µl	48 µl	96 µl
Enzima para RT-PCR 25x	1 µl	9 µl	32 µl	64 µl
Total	15 µl	135 µl	480 µl	960 µl

2. Prepare un tubo aparte de 1,5 ml por mezcla de cebador/sonda y etiquételo debidamente. Pipetee la cantidad necesaria de tampón para RT-PCR 2x en función del número de reacciones (consulte la Tabla 3).
3. Pipetee la cantidad necesaria de VM1 PP Mix y EPA PP Mix en el tubo correspondiente que contiene tampón para RT-PCR 2x (consulte la Tabla 3).
4. **Preparación de la mezcla maestra**

NOTAS:

- Con el fin de obtener volúmenes adecuados y evitar que se desperdicie material, no sumerja la punta completa en el líquido cuando pipetee la enzima para RT-PCR 25x.
 - Pipetee el líquido muy lentamente para evitar burbujas de aire.
 - Antes de dispensar el líquido, limpie la punta contra el borde del recipiente para eliminar el exceso de líquido del exterior de la punta.
 - Cambie la punta después de cada paso de pipeteo.
- a. Pipetee la cantidad necesaria de enzima para RT-PCR 25x en los tubos que contienen VM1 PP Mix y EPA PP Mix y tampón para RT-PCR 2x (consulte la Tabla 3).
 - b. Agite brevemente la mezcla maestra en un mezclador vórtex y centrifúguela.
 - c. Utilice la mezcla maestra de inmediato y no la guarde después de su uso.

Prepare una placa de 96 pocillos para el Applied Biosystems® 7500

NOTA: Cada mezcla maestra en la placa debe tener un PC y NC correspondientes para realizar el análisis.

Consulte la Figura 1 para ver un ejemplo de la colocación de las muestras de paciente y los controles.

Figura 1: Muestras y controles - Ejemplo de mapa de placa

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

Legenda: Amarillo = Mezcla maestra VM1 (A1-H1) y mezcla maestra EPA (A2-H2) • PC (Control positivo) (G1-G2)
 • NC (Control negativo) (H1-H2)

Para preparar una placa de 96 pocillos (compatible con el Applied Biosystems® 7500):

1. Pipetee 15 µl de la mezcla en los pocillos identificados a continuación:
 - a. Mezcla maestra VM1 en los pocillos A1 a H1.
 - b. Mezcla maestra EPA en los pocillos A2 al H2.
2. Añada 10 µl de las muestras extraídas a los pocillos A1 a F1 y A2 a F2.
3. Añada 10 µl de PC a los pocillos G1 y G2.
4. Añada 10 µl del NC extraído a los pocillos H1 y H2.
5. Selle la placa con la película adhesiva adecuada.
6. Agite suavemente la placa en un mezclador vórtex y después centrifugue brevemente.
7. Coloque la placa en el Applied Biosystems® 7500.

NOTA: Consulte las instrucciones de uso del fabricante del Applied Biosystems® 7500.

Programe el termociclador

En la Tabla 4 se indican las longitudes de onda de detección de los colorantes utilizados en este kit.

Tabla 4: Programación del detector

PP Mix y ajustes de detección del termociclador				
	Mezcla maestra		Colorante	Longitud de onda de detección (nm) ^[a]
	VM1	EPA		
Patógeno	HSV-1	EV	verde	520
	HSV-2	HPeV	amarillo	550
	MuV	IC (BMV)	naranja	610
	VZV	/	rojo	670

[a] Las longitudes de onda de detección indicadas se obtuvieron del Applied Biosystems® 7500. Las longitudes de onda pueden ser diferentes en otros termocicladores.

NOTA: Cambie el ajuste para el colorante passive reference (referencia pasiva) a **NONE (NINGUNO)** (el colorante ROX está seleccionado de forma predeterminada).

Programa de PCR

La tabla siguiente detalla los pasos de programación del termociclador.

Fase	Ciclos	Adquisición	Temperatura	Tiempo
Retención	/	/	50 °C	15 minutos
Retención	/	/	94 °C	1 minuto
Termociclado	40	/	94 °C	8 segundos
		Sí	60 °C	1 minuto

Para atención al cliente, póngase en contacto con el distribuidor o el proveedor de asistencia técnica de su zona.

Finalización del análisis

Retire la placa para PCR sellada, siguiendo las instrucciones del fabricante del termociclador. Revise los resultados y deseche la placa de PCR como residuo biopeligroso, conforme a los requisitos normativos locales.

Criterios para un análisis válido

El análisis se considera válido y los resultados del paciente se notifican si se cumplen todas las condiciones siguientes:

1. El NC no mostrará ninguna traza de amplificación aparte de la del IC. Si hay una posible contaminación (aparición de una curva en el NC o un grupo de curvas en las muestras con un valor de Ct alto^[1]), los resultados obtenidos no se pueden interpretar y es necesario repetir el análisis completo (incluida la extracción).
2. Todos los PC deben mostrar un trazado de amplificación positivo (es decir, exponencial). El valor de Ct del PC debe estar por debajo de 33.
3. Todas las muestras y NC (o cada material extraído) deben mostrar un registro de amplificación positiva para el IC. El valor de Ct del IC debe estar por debajo de 33.

Resultados

Interpretación de los resultados

En la Tabla 5 se detallan los posibles resultados con FTD Viral meningitis.

Tabla 5: FTD Viral meningitis - Resultados posibles

PP Mix	Patógeno	Señal en el canal verde	Señal en el canal amarillo	Señal en el canal naranja	Señal en el canal rojo
VM1	HSV-1	POS	—	—	—
	HSV-2	—	POS	—	—
	MuV	—	—	POS	—
	VZV	—	—	—	POS
EPA	EV	POS	—	—	—
	HPeV	—	POS	—	—
	IC (BMV)	—	—	POS	—

Legenda: POS = positivo; vacío = negativo

Los resultados se notificarán en unidades de umbral del ciclo (Ct).

[1] Muestras con un valor de Ct por encima de 35.

Si se cumplen los criterios indicados en el apartado *Criterios para un análisis válido*, se considerará positiva cualquier muestra de paciente que tenga un trazado exponencial para uno de los patógenos identificados por el kit. La ausencia de un trazado exponencial indica la ausencia o una carga indetectable de ácidos nucleicos.

Por ejemplo, si una muestra de paciente analizada con la mezcla maestra VM1 presenta un trazado exponencial de fluorescencia (consulte la Tabla 5) en los siguientes canales:

- Canal verde: Esta muestra contiene una carga detectable de ADN de HSV-1, y carece o no tiene una carga detectable de ácidos nucleicos de HSV-2, MuV y VZV.
- Canal amarillo: Esta muestra contiene una carga detectable de ADN de HSV-2, y carece o no tiene una carga detectable de ácidos nucleicos de HSV-1, MuV y VZV.
- Canal naranja: Esta muestra contiene una carga detectable de ARN de MuV, y carece o no tiene una carga detectable de ácidos nucleicos de HSV-1, HSV-2 y VZV.
- Canal rojo: Esta muestra contiene una carga detectable de ADN de VZV, y carece o no tiene una carga detectable de ácidos nucleicos de HSV-1, HSV-2 y MuV.

También es posible tener varios trazados exponenciales de fluorescencia en las mismas muestras. Según el color de la señal, indicará la presencia de ácidos nucleicos de HSV-1, HSV-2, MuV o VZV.

El IC debe ser positivo para cada material extraído (muestras y NC).



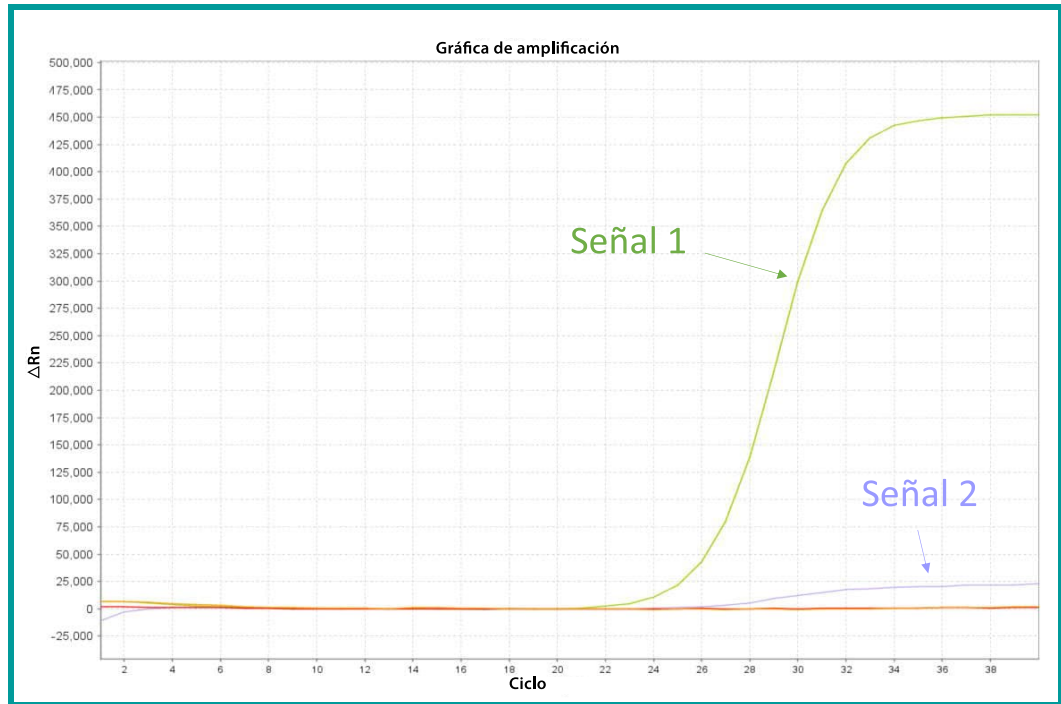
WARNING (ATENCIÓN)
INFORMACIÓN IMPORTANTE SOBRE LOS RESULTADOS POSITIVOS FALSOS

Para evitar la obtención de resultados positivos falsos, preste atención a lo siguiente:

1. Señales cruzadas

En algunos casos, una señal positiva intensa en un canal puede dar lugar a la aparición de una señal inespecífica más débil en otro canal (señales cruzadas). En la Figura 2 se ilustra esta situación: una señal positiva alta en el canal verde (señal 1, en verde) puede dar lugar a una señal más débil en el canal amarillo (señal 2, en morado). La intensidad de la fluorescencia y el valor de Ct de la señal 2 siempre serán más bajos que los de la señal 1.

Figura 2: Ilustración de las señales cruzadas



Si hay sospecha de señales cruzadas:

- Compruebe en la Tabla 6 si los resultados pertenecen a las señales cruzadas observadas con FTD Viral meningitis. Si es así, siga los pasos b. a d.
- La señal más intensa debe considerarse como un positivo real.
- La señal más débil debe considerarse no concluyente, ya que no se puede excluir formalmente la coinfección.
- Se requiere una prueba alternativa para confirmar el estado de la muestra para el patógeno asociado a la señal más débil.

Tabla 6 se detallan las posibles señales cruzadas para la VM1 PP Mix de FTD Viral meningitis.

Tabla 6: Posibles señales cruzadas observadas con FTD Viral meningitis

PP Mix	Verde	Amarillo	Naranja	Rojo
VM1		Positivo real (HSV-2)	Posible señal cruzada (MuV FP)	

Legenda: Texto verde = señal positiva intensa (notificar como positivo), texto rojo = posible señal cruzada (descartar), FP = Positivo falso

2. Señales positivas bajas inespecíficas

Se pueden generar aleatoriamente ciertas señales positivas bajas inespecíficas al analizar muestras. Las señales inespecíficas son señales de amplificación positivas con valores de umbral de ciclo (Ct) altos (superiores a 35). La Tabla 7 muestra los patógenos afectados y la tasa de aparición de estas señales (consulte el apartado *Características de rendimiento – Material negativo* en la página 28) junto con el valor de Ct mínimo observado internamente como referencia. Estos valores de Ct son válidos para el uso de este producto en combinación con los instrumentos easyMAG® (bioMérieux) y Applied Biosystems® 7500 (ThermoFisher Scientific).

Si observa un resultado positivo bajo con un valor de Ct superior a 35:

- Compruebe en la Tabla 7 si los resultados pertenecen a los patógenos indicados. Si es así, siga los pasos b. a c.
- Considere el resultado no concluyente.
- Vuelva a analizar la muestra con un método alternativo.

Tabla 7: Tasa de aparición y valor de corte de Ct para las señales positivas bajas inespecíficas

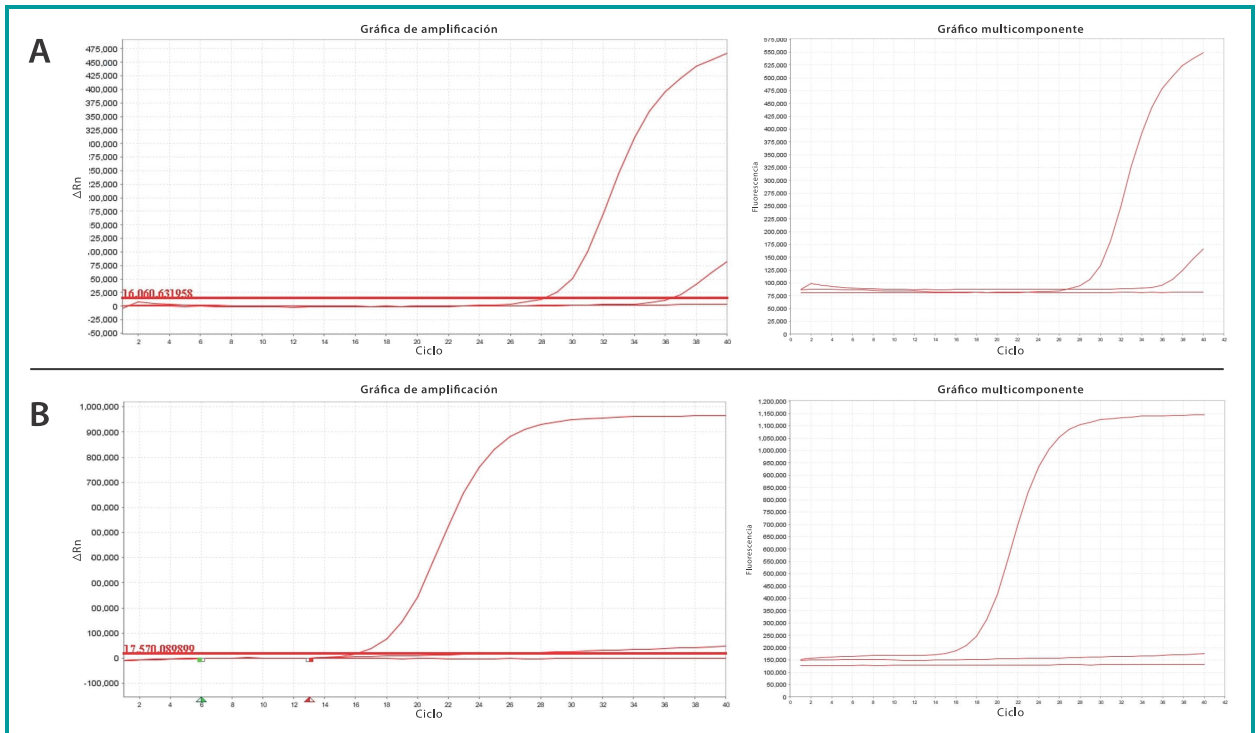
PP Mix	Patógeno	Canal	Tasa de aparición	Ct mínimo
EPA	HPeV	amarillo	1,30 %	37,80

Legenda: Ct = Valor de umbral de ciclo observado internamente

3. Ajuste de la línea base y gráfico multicomponente

La línea base de la curva de amplificación es uno de los parámetros que pueden afectar a los resultados de la PCR. Si la línea base está definida incorrectamente, se puede mostrar un valor de Ct aunque no se haya producido una amplificación real. La Figura 3 ilustra la diferencia entre una amplificación real (A) y un ajuste incorrecto de la línea base con un valor de Ct aunque no se haya producido amplificación (B).

Figura 3: Comparación entre una señal de amplificación real (A) y un ajuste incorrecto de referencia (B)



Compruebe siempre las representaciones de la señal en el gráfico multicomponente y cerciórese de que la línea base esté bien ajustada antes de concluir que un trazado de amplificación es exponencial. El gráfico multicomponente muestra la contribución espectral total de cada colorante y ayuda a revisar la señal del colorante informante en busca de picos, descensos u otros cambios repentinos. Póngase en contacto con el fabricante del equipo o con Fast Track Diagnostics para obtener indicaciones para configurar correctamente la línea base.


Maria Gabriela Gobet
Co Directora Técnica
 Farm. Ma Gabriela Gobet
 M.P. 21577 / **Co Directora Técnica**
 DNI 16.894.498/ **Apoderada Legal**
 Siemens Healthcare S.A

Limitaciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

- El uso de este kit debe limitarse al personal que haya recibido formación en la técnica de RT-PCR y en el uso de los kits FTD.
- El rendimiento del kit únicamente se ha verificado y validado con los procedimientos que se describen en las instrucciones de uso. Las modificaciones en estos procedimientos puede alterar el rendimiento de la prueba.
- El rendimiento de este kit se ha evaluado exclusivamente para su uso con material de muestras humanas.
- Las instrucciones proporcionadas de almacenamiento y envío de las muestras son recomendaciones. No se dispone de datos de verificación y validación para la recogida y la manipulación (transporte y conservación) de las muestras.
- Este es un kit cualitativo que no proporciona una cuantificación de los patógenos detectados en la muestra. No hay correlación entre los valores de umbral de ciclo (Ct) obtenidos y la cantidad de patógenos en la muestra recogida.
- El rendimiento de esta prueba no se ha verificado ni validado en personas inmunodeprimidas, ni en pacientes que no presenten signos y síntomas de meningitis o encefalitis.
- La fiabilidad de los resultados de esta prueba exige la recogida adecuada de las muestras, además de los procedimientos correctos de transporte, conservación y procesamiento de las muestras y el kit. Si no se siguen estos procedimientos, pueden producirse resultados no válidos, así como valores negativos y positivos falsos.
- Otros parámetros pueden dar lugar a resultados positivos o negativos falsos, o no válidos, relacionados con la patología del paciente (uso de tratamiento antiviral, edad del paciente, antecedentes de enfermedades infecciosas, presencia de síntomas y estadio de la infección en el paciente).
- Se pueden detectar niveles bajos de virus, por debajo del límite de detección, pero los resultados podrían no ser reproducibles.
- Esta prueba no será el único elemento consultado para el diagnóstico o la decisión de tratamiento. Una muestra en la que no se haya detectado el patógeno no puede considerarse negativa para este patógeno, ya que los resultados dependen de distintas variables, como se ha explicado antes.
- Pueden producirse mutaciones en las regiones de las dianas del virus detectado por el kit. Como consecuencia, las combinaciones de cebador y sonda pueden fracasar a la hora de detectar la presencia de estos virus.
- La detección de los patógenos puede verse afectada por la presencia de inhibidores distintos de los especificados en el apartado *Características de rendimiento*.

Características de rendimiento

Las características de rendimiento muestran los datos de rendimiento clínico y analítico de FTD Viral meningitis.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es la capacidad del kit para detectar sistemáticamente una secuencia diana determinada en las muestras biológicas analizadas. La concentración mínima detectable en un porcentaje mayor o igual al 95 % de las muestras analizadas se define como «Límite de detección» (LD).

El LD de FTD Viral meningitis se determinó empíricamente analizando diluciones seriadas del material cuantificado. Los productos utilizados en el estudio de sensibilidad analítica se indican en la Tabla 8.

Tabla 8: Productos utilizados para la determinación del LD FTD Viral meningitis

Patógeno	Producto	Proveedor
HSV-1	AMPLIRUN® HERPES SIMPLEX 1 DNA CONTROL	Vircell
HSV-2	AMPLIRUN® HERPES SIMPLEX 2 DNA CONTROL	
MuV	AMPLIRUN® MUMPS RNA CONTROL	
VZV	AMPLIRUN® VARICELLA-ZOSTER VIRUS DNA CONTROL	
EV	AMPLIRUN® ENTEROVIRUS 71 DNA CONTROL	
HPeV	AMPLIRUN® PARECHOVIRUS 1 RNA CONTROL	

Para determinar la sensibilidad analítica específica del patógeno, se realizaron diluciones seriadas con un mínimo de 24 réplicas por patógeno y paso de dilución. Este análisis se llevó a cabo con diferentes instrumentos y operadores, en días distintos. El LD de cada patógeno se evaluó mediante análisis de regresión Probit (PROBability unITs) (consulte la Tabla 9). Al utilizarse ADN o ARN extraído para determinar el LD, el resultado se da en copias del genoma por mililitro (cop.gen/ml) de eluido.

Tabla 9: Sensibilidad analítica de FTD Viral meningitis

Patógeno	Unidad	LD	Intervalo de confianza del 95 %
HSV-1	cop.gen/ml	$1,7 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4 - 2,3 \times 10^4$
HSV-2	cop.gen/ml	$2,8 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4 - 3,6 \times 10^4$
MuV	cop.gen/ml	$8,7 \times 10^3$	$6,1 \times 10^3 - 1,2 \times 10^4$
VZV	cop.gen/ml	$3,6 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3 - 4,6 \times 10^3$
EV	cop.gen/ml	$7,6 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3 - 1,1 \times 10^4$
HPeV	cop.gen/ml	$4,2 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4 - 5,9 \times 10^4$

Leyenda: cop.gen/ml = copias del genoma por mililitro

Los resultados del análisis Probit se confirmaron después analizando 24 réplicas a una concentración equivalente al límite superior de confianza indicado en la Tabla 9. Este estudio de confirmación del LD se llevó a cabo con diferentes instrumentos, operadores y lotes de reactivos. Todos los patógenos mostraron una tasa de detección superior al 95 %.

Especificidad analítica

La especificidad analítica de un ensayo de PCR multiplex es la capacidad de una medición para determinar exclusivamente el parámetro medido. Incluye:

- Reactividad cruzada: La capacidad de la prueba para detectar específicamente los patógenos deseados (incluidos los subtipos relevantes cuando se especifica), pero ningún otro microorganismo en las muestras biológicas.
- Especificidad: La garantía de que la prueba no va a comunicar resultados positivos falsos cuando se analicen muestras negativas.

La especificidad analítica de FTD Viral meningitis se validó mediante un análisis *in silico* y pruebas *in vitro*, tal como se detalla a continuación.

Reactividad cruzada

Análisis *in silico*

La especificidad de FTD Viral meningitis se determinó mediante un análisis *in silico*, aplicando la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Se buscaron regiones de similitud en todos los cebadores y sondas de este ensayo, analizando la base de datos completa de la colección de nucleótidos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (proteína no redundante [nr]/nucleótido no redundante [nt]), excluyendo las secuencias que pertenecen al microorganismo diana. Se utilizó una similitud de secuencias de al menos un 90 % con las secuencias del ensayo correspondientes (cebador/sonda) como criterio de asignación para detectar posibles coincidencias que producían amplicones. Se permitió un

máximo de cuatro discrepancias entre la secuencia de oligonucleótidos y la secuencia diana durante la asignación de los cebadores y las sondas.

Los resultados del análisis *in silico* se muestran en la Tabla 10. Los datos no muestran reactividad cruzada para FTD Viral meningitis.

Tabla 10: Reactividad cruzada de FTD Viral meningitis

Patógeno	Reactividad cruzada <i>in silico</i>
HSV-1	No hay posible reactividad cruzada
HSV-2	
MuV	
VZV	
EV	
HPeV	

Análisis *in vitro*

Se analizó FTD Viral meningitis *in vitro* para comprobar la posible reactividad cruzada con microorganismos que pueden estar presentes en el LCR. Las pruebas de reactividad cruzada se llevaron a cabo utilizando varias mezclas de muestras artificiales. Se añadió a cada mezcla un máximo de 5 patógenos. Las mezclas se extrajeron y se evaluaron con FTD Viral meningitis.

La lista de patógenos analizados se muestra en la Tabla 11, junto con la información del cultivo, la concentración analizada y los resultados del análisis. No se detectó ninguna señal inespecífica.

Tabla 11: Panel de reactividad cruzada probado con FTD Viral meningitis

Microorganismo	Proveedor	Concentración analizada	Unidad	Resultado
<i>Acinetobacter baumannii</i>	American Type Culture Collection (ATCC) [®]	8,00E+04	UFC/ml	No detectado
Adenovirus; adenoides 71	ATCC	1,58E+05	TCID50/ml	No detectado
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	ATCC	2,40E+06	UFC/ml	No detectado
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC	>0,67E+04	UFC/ml	No detectado
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC	1,82E+05	UFC/ml	No detectado
Virus BK	ATCC	1,67E+03	TCID50/ml	No detectado

Tabla 11: Panel de reactividad cruzada probado con FTD Viral meningitis (Continuación)

Microorganismo	Proveedor	Concentración analizada	Unidad	Resultado
<i>Bordetella parapertussis</i>	Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD)	Desconocido (Ct: 29,8*)	N/A	No detectado
<i>Bordetella pertussis</i>	ATCC	>0,67E+04	UFC/ml	No detectado
<i>Campylobacter coli</i>	DSMZ	Desconocida	N/A	No detectado
<i>Campylobacter jejuni</i> ; subsp. <i>Jejuni</i> NCTC 11168	ATCC	>2,00E+02	UFC/ml	No detectado
<i>Candida albicans</i>	ATCC	4,18E+06	UFC/ml	No detectado
<i>Candida krusei</i> ; <i>Issatchenkia orientalis</i>	ATCC	4,20E+05	UFC/ml	No detectado
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC	3,60E+06	UFC/ml	No detectado
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC	7,00E+05	UFC/ml	No detectado
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC	>3,10E+05	UFC/ml	No detectado
<i>Clostridium perfringens</i> ; cepa S107	ATCC	1,30E+04	UFC/ml	No detectado
Coronavirus 229E	ATCC	1,67E+3,75	TCID50/ml	No detectado
Coronavirus NL63	Zeptomatrix	0,33E+5,07	TCID50/ml	No detectado
Coronavirus OC43	ATCC	1,67E+4,75	TCID50/ml	No detectado
Citomegalovirus	ATCC	0,78E+05	TCID50/ml	No detectado
EBV; cepa B95-8	ATCC	>1,67E+03	TCID50/ml	No detectado
<i>Klebsiella aerogenes</i> ; Cloaca B	ATCC	3,68E+05	UFC/ml	No detectado
<i>Enterobacter cloacae</i> ; Cloaca A	ATCC	2,00E+04	UFC/ml	No detectado
<i>Escherichia coli</i> ; cepa Migula	ATCC	7,40E+06	UFC/ml	No detectado
<i>Haemophilus influenzae</i> ; AMC 36-A-3	ATCC	>0,67E+04	UFC/ml	No detectado
Virus de la hepatitis B	ATCC	2,75E+04	cop/ml	No detectado

Tabla 11: Panel de reactividad cruzada probado con FTD Viral meningitis (Continuación)

Microorganismo	Proveedor	Concentración analizada	Unidad	Resultado
Virus de la hepatitis C, genotipo 1A	Siemens Healthineers (SHS)	1,37E+03	UI/ml	No detectado
HHV-7	Exact Diagnostics	9,99E+06	cop/ml	No detectado
HIV-1	SHS	2,09E+04	cop/ml	No detectado
Astrovirus humano, tipo 1	ATCC	2,80E+05	TCID50/ml	No detectado
Virus respiratorio sincitial humano A2	ATCC	>1,67E+03	TCID50/ml	No detectado
Virus respiratorio sincitial humano B; cepa CH93(18)-18	Zeptomatrix	1,00E+4,66	TCID50/ml	No detectado
Rinovirus humano 1A; cepa 2060	ATCC	1,58E+06	TCID50/ml	No detectado
Virus H3N2 de la gripe A; cepa Wisconsin/67/05	Zeptomatrix	0,33E+5,39	TCID50/ml	No detectado
Virus de la gripe B	QCMD	Desconocido (Ct: 27,8*)	N/A	No detectado
<i>Klebsiella oxytoca</i>	DSMZ	7,69E+06	cop.gen/ml	No detectado
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC	2,80E+06	UFC/ml	No detectado
Virus del sarampión; Loss	PHE	3,16E+06	TCID50/ml	No detectado
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ; B-585	ATCC	>0,67E+04	UFC/ml	No detectado
<i>Neisseria lactamica</i>	DSMZ	1,37E+07	cop/ml	No detectado
<i>Neisseria meningitidis</i> serogrupo A	ATCC	1,95E+10	cop/ml	No detectado
<i>Neisseria mucosa</i>	DSMZ	1,85E+07	cop.gen/ml	No detectado
Virus paragripal humano 1, humano, cepa C35	ATCC	2,80E+04	TCID50/ml	No detectado
Virus paragripal humano 2	ATCC	1,58E+05	TCID50/ml	No detectado
Virus paragripal humano 4	ATCC	2,80E+04	TCID50/ml	No detectado

Tabla 11: Panel de reactividad cruzada probado con FTD Viral meningitis (Continuación)

Microorganismo	Proveedor	Concentración analizada	Unidad	Resultado
<i>Proteus mirabilis</i> ; CDC PR 14	ATCC	>2,00E+02	UFC/ml	No detectado
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	4,34E+07	UFC/ml	No detectado
Rotavirus	ATCC	1,60E+05	TCID50/ml	No detectado
<i>Salmonella enteritidis</i> ; subsp. Enterica / serovar Enteritidis	ATCC	1,38E+06	UFC/ml	No detectado
<i>Serratia marcescens</i> ; subsp. marcescens BS 303	ATCC	1,78E+05	UFC/ml	No detectado
<i>Shigella flexneri</i>	DSMZ	Desconocida	N/A	No detectado
<i>Shigella</i> spp.	QCMD	Desconocido (Ct: 26,8*)	N/A	No detectado
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	DSMZ	1,91E+07	cop.gen/ml	No detectado
<i>Treponema pallidum</i>	ATCC	4,90E+06	cop/ml	No detectado
<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3	ATCC	2,32E+05	UFC/ml	No detectado

Leyenda: UFC = unidades formadoras de colonias, TCID50 = mediana de la dosis infecciosa de cultivo tisular, Ct = umbral de ciclo, cop/ml = copias por mililitro, UI/ml = Unidades internacionales por mililitro, cop.gen/ml = copias del genoma por mililitro

*Los valores de Ct se determinaron mediante otros productos FTD.

Material negativo

Se analizó material negativo (controles negativos extraídos, muestras clínicas negativas extraídas o controles sin plantilla) *in vitro* con el fin de evaluar la aparición de posible amplificación inespecífica durante el uso de FTD Viral meningitis. La especificidad analítica obtenida de cada patógeno se muestra en la Tabla 12. En total, se alcanzó una especificidad analítica del 99,80 %.

Tabla 12: Especificidad analítica de FTD Viral meningitis

Patógenos	Número de resultados positivos	Total de reacciones	Especificidad analítica (%)	Intervalo de confianza (%)
HSV-1	0	260	100	98,59–100
HSV-2	0	260	100	98,59–100
VZV	0	260	100	98,59–100
MuV	0	255	100	98,56–100
EV	0	222	100	98,35–100
HPeV	3	230	98,70	96,24–99,73
			99,80	Total*

*La especificidad total se calcula como el promedio de la especificidad analítica observada para cada patógeno individual.

Inclusividad

La inclusividad (o reactividad analítica) es la capacidad de un ensayo para detectar varias cepas o serotipos de una especie, varias especies de un género o un agrupamiento similar de microorganismos estrechamente relacionados.

La inclusividad se evaluó mediante análisis *in silico* de todas las secuencias disponibles del microorganismo diana en la colección de nucleótidos del NCBI. A continuación, se asignaron cebadores y sondas a las secuencias para detectar posibles coincidencias que producían amplicones. Se admitió un máximo de cuatro discrepancias entre la secuencia de oligonucleótidos y la secuencia diana durante la asignación de los cebadores y las sondas, ya que generalmente, incluso una coincidencia imperfecta produce emparejamiento y amplificación.

Los resultados de los análisis de inclusividad se resumen en la Tabla 13.

Tabla 13: Inclusividad de FTD Viral meningitis

Patógenos	Subtipos detectados
HSV-1	Sin subtipos definidos
HSV-2	
MuV	Genotipos A, C, D, F, G, H, I, J, K, L, N

Tabla 13: Inclusividad de FTD Viral meningitis (Continuación)

Patógenos	Subtipos detectados
VZV	Clades 1–6 y 9
EV	Especies A–D
HPeV	Subtipos 1–8, 10, 14 y 16–18

Precisión

La precisión hace referencia a lo bien que puede reproducirse una medición cuando una prueba se aplica repetidamente a varias alícuotas de una sola muestra homogénea. La precisión de FTD Viral meningitis se evaluó mediante estudios de repetibilidad y reproducibilidad con un material de prueba a una concentración en el LD (consulte la Tabla 14). La repetibilidad evalúa mediciones llevadas a cabo en las mismas condiciones (variación intraensayo), mientras que la reproducibilidad evalúa los resultados de mediciones en condiciones modificadas (es decir, tiempo, operador o lotes de producto). La precisión de cada estudio se expresó en función de las mediciones estadísticas de imprecisión (desviación estándar y coeficiente de variación).

Se analizaron muestras comerciales cuantificadas de cada patógeno a una concentración en el límite de detección con FTD Viral meningitis. Los resultados se obtuvieron en varios análisis y durante varios días. Los análisis los realizaron diferentes operadores en distintos termocicladores con diferentes lotes de mezcla PP.

La Tabla 14 presenta los resultados del estudio de precisión. Los datos mostraron una imprecisión de la repetibilidad entre el 0,82 % y el 2,21 %, y una imprecisión de la reproducibilidad entre el 0,89 % y el 4,35 %.

Tabla 14: Estudio de precisión de FTD Viral meningitis

Patógeno	N	SD repetibilidad	SD reproducibilidad*	% CV repetibilidad	% CV reproducibilidad*
HSV-1	24	0,77	0,77	2,08	2,08
HSV-2	24	0,25	0,27	0,82	0,89
MuV	24	0,47	0,81	1,33	2,30
VZV	23	0,74	0,74	2,08	2,08
EV	24	0,49	0,50	1,45	1,47
HPeV	23	0,74	1,45	2,21	4,35

Leyenda: SD = desviación estándar, CV = coeficiente de variación

Sustancias interferentes

Se llevó a cabo un estudio de interferencias para evaluar la probabilidad de que FTD Viral meningitis produzca resultados erróneos en presencia de posibles sustancias interferentes en la muestra clínica. Se añadieron todos los patógenos diana de una mezcla PP en concentraciones bajas a una matriz artificial, y después se dividió en alícuotas. A cada tubo se le añadió también una sustancia interferente, el eluyente o se dejó sin tratar. Las mezclas se extrajeron con NucliSENS® easyMAG® y se evaluaron utilizando triplicados técnicos y un lote de FTD Viral meningitis en el Applied Biosystems® 7500.

La lista de sustancias analizadas y su efecto interferente se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15: Posibles sustancias interferentes evaluadas

Sustancia	Proveedor	Concentración analizada	Resultado
Glucosa	Sigma	55 mM	Sin interferencias
Lactato	Sigma	10 mM	Sin interferencias
Albúmina	Sigma	60 g/l	Sin interferencias
Inmunoglobulina G	Sigma	10 mg/ml	Sin interferencias
Preparación de CMSP	Lonza	6250 células/μl	Sin interferencias
Preparación de CMSP	Lonza	10 000 células/μl	Interferencia detectada
Sangre completa	Biomex	5 % v/v	Sin interferencias
Dexametasona	Sigma	30,6 μM	Sin interferencias
Aciclovir	Sigma	290 μM	Sin interferencias
Foscarnet	Sigma	750 μM	Sin interferencias
Ampicilina	Sigma	215 μM	Sin interferencias
Ceftriaxona	Sigma	1,5 mM	Sin interferencias
Vancomicina	Sigma	82,8 μM	Sin interferencias
Ibuprofeno	Sigma	1060 μM	Sin interferencias
Acetaminofén	Sigma	1030 μM	Sin interferencias
Ácido acetilsalicílico	Sigma	167 μM	Sin interferencias

Leyenda: mM = milimolar, g/l = gramos por litro, mg/ml = miligramos por mililitro, v/v = volumen a volumen, μM = micromolar, CMSP = células mononucleares de sangre periférica, células/μl = células por microlitro

NOTA: No se observó ningún efecto interferente a una concentración más baja (6250 células/μl) de la preparación de CMSP. Sin embargo, se detectó un efecto interferente a una concentración más alta de 10 000 células/μl de la preparación de CMSP. Para este estudio, se utilizaron preparaciones de CMSP para representar los glóbulos blancos. En casos de meningitis vírica, es poco probable que las concentraciones de glóbulos blancos excedan las 4000 células/μl en LCR.

Rendimiento clínico

El rendimiento de FTD Viral meningitis fue evaluado utilizando 165 muestras de líquido cefalorraquídeo previamente probadas (incluidas 136 muestras artificiales) de hombres y mujeres adultos, lactantes y niños.

Las muestras se probaron con FTD Viral meningitis utilizando el método de extracción NucliSENS® easyMAG® y el sistema de PCR en tiempo real Applied Biosystems® 7500. El estudio de rendimiento clínico se evaluó comparando los resultados de FTD Viral meningitis con una prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) CE-IVD de otro fabricante (HSV-1, HSV-2, VZV y HPeV) o con el estado esperado de la muestra (para MuV y EV).

Los resultados se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16: Sensibilidad y especificidad diagnóstica obtenida para los patógenos detectados por FTD Viral meningitis

Patógeno	Sensibilidad diagnóstica		Intervalo de confianza del 95 %	Especificidad diagnóstica		Intervalo de confianza del 95 %
	Porcentaje	Número total		Porcentaje	Número total	
HSV-1	100 %	24/24	85,75–100	100 %	140/140	97,40–100
HSV-2	100 %	22/22	84,56–100	100 %	142/142	97,44–100
VZV	92,59 %	25/27	75,71–99,09	99,27 %	136/137	96,00–99,98
MuV	100 %	25/25	86,28–100	100 %	122/122	97,02–100
EV	100 %	25/25	86,28–100	100 %	140/140	97,40–100
HPeV	100 %	25/25	86,28–100	99,28 %	138/139	96,06–99,98

Los resultados mostraron una sensibilidad diagnóstica general del 98,65 % (intervalo de confianza del 95 %: 95,20–99,84) y una especificidad diagnóstica general del 99,76 % (intervalo de confianza del 95 %: 99,12–99,97) para detectar el HSV-1, HSV-2, VZV, MuV, EV y HPeV con FTD Viral meningitis.

Resolución de problemas

La Tabla 17 muestra una lista no exhaustiva de los errores de control que puede observar un usuario con FTD Viral meningitis y las medidas correctivas recomendadas.

Tabla 17: Errores de control

Observación	Causa posible	Medida correctiva
El control positivo no se amplifica	Programación incorrecta del perfil de temperatura del termociclador.	Compare el perfil de temperatura con el del manual.
	Configuración incorrecta del análisis de PCR.	<ul style="list-style-type: none"> Confirme que los reactivos se hayan añadido en la secuencia correcta; repita la PCR si es necesario. Compruebe la calibración de las pipetas.
	Manipulación incorrecta de los controles positivos.	Agitación inadecuada o ausencia de agitación en el mezclador vórtex, o el control no se descongeló debidamente a temperatura ambiente.
	Las condiciones de conservación de uno o más componentes del producto no se ajustaron a las instrucciones, o el kit de FTD ha caducado.	Compruebe las condiciones de conservación y la fecha de caducidad en la caja del kit. Deseche el kit si es necesario.
Señal del control interno débil o ausente	Las condiciones de la PCR no cumplen el protocolo.	Asegúrese de que el flujo de trabajo de extracción y amplificación se haya llevado a cabo tal como se indica. Repita el análisis si es necesario. Si el problema persiste, considere la presencia de material interferente en las muestras.
	La amplificación del IC se inhibió o la extracción del IC fue inadecuada.	
Amplificación en el control negativo	Contaminación durante la preparación de la placa para PCR o durante la extracción.	<ul style="list-style-type: none"> Repita la preparación de la placa de PCR con reactivos, muestras y controles nuevos. Repita el procedimiento de extracción con reactivos nuevos. Para evitar la contaminación del PC, pipetee el control positivo en último lugar. Descontamine el espacio de trabajo y los instrumentos después de cada uso.

Para atención al cliente, póngase en contacto con el distribuidor o el proveedor de asistencia técnica de su zona.

Asistencia técnica

Para atención al cliente, póngase en contacto con el distribuidor o el proveedor de asistencia técnica de su zona.
siemens-healthineers.com

















Referencias

1. CDC website pages: <https://www.cdc.gov/meningitis/viral.html> and <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6434a3.htm>. Accessed January 2020.
2. Harvala H, Broberg E, Benschop K, *et al.* Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe. *Journal of Clinical Biology*. 2018;101:11–17.
3. Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, Cardoso MJ, McMinn P, Ooi MH. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *The Lancet Infectious Disease*. 2010;10(11):778–790.
4. Suzich JB, Cliffe AR. Strength in diversity: Understanding the pathways to herpes simplex virus reactivation. *Virology*. 2018;522:81–91.
5. Thellman N, Triezenberg SJ. Herpes Simplex Virus Establishment, Maintenance, and Reactivation: *In Vitro* Modeling of Latency. *Pathogens*. 2017;6(3):1–14.
6. Shi TL, Huang LJ, Xiong YQ, *et al.* The risk of herpes simplex virus and human cytomegalovirus infection during pregnancy upon adverse pregnancy outcomes: A meta-analysis. *Journal of Clinical Virology*. 2018;104:48–55.
7. Olijve L, Jennings L, Walls T. Human Parechovirus: an Increasingly Recognized Cause of Sepsis-Like Illness in Young Infants. *Clinical Microbiology Reviews*. 2017;31(1):e00047–17.
8. Cabrerizo M, Trallero G, Pena MJ. Comparison of epidemiology and clinical characteristics of infections by human parechovirus vs. those by enterovirus during the first month of life. *European Journal of Pediatrics*. 2015;174:1511–1516.
9. Harvala H, Simmonds P. Human parechoviruses: Biology, epidemiology and clinical significance. *Journal of Clinical Virology*. 2009;45(1):1–9.
10. Aizawa Y, Izumita R, Akihiko S. Human parechovirus type 3 infection: An emerging infection in neonates and young infants. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2017;23(7):419–426.
11. Mourez T, Dina J. Mumps virus: a comprehensive review. *Virologie*. 2018; 22(4):14–27.
12. Breuer, J. Molecular Genetic Insights Into Varicella Zoster Virus (VZV), the vOka Vaccine Strain, and the Pathogenesis of Latency and Reactivation. *The Journal of Infectious Diseases*. 2018;218(Suppl 2):S75–S80.
13. Freer G, Pistello M. Varicella-zoster virus infection: natural history, clinical manifestations, immunity and current and future vaccination strategies. *New Microbiologica*. 2018;41(2):95–105.
14. Nagel M, Gilde D. Neurological Complications of VZV Reactivation. *Current Opinion Neurology*. 2014;27(3):356–360.

15. Depledge D, Yamanishi K, Gomi Y, Gershon AA, Breuer J. Deep Sequencing of Distinct Preparations of the Live Attenuated Varicella-Zoster Virus Vaccine Reveals a Conserved Core of Attenuating Single-Nucleotide Polymorphisms. *Journal of Virology*. 2016;90(19):8698–8704.
16. CDC. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis Caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*: Chapter 5, Collection and Transport of Clinical Specimens. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis. 2011. Second Edition.
17. Rainen L, Arbique J, Ashtana D, et. al. CLSI MM13-A. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. *CLSI*. 2005;25(9):1–5.

Definición de los símbolos

En esta sección se describen todos los símbolos utilizados en la descripción del etiquetado de los productos, en la información de uso o manipulación de los componentes, o en el envase de las unidades de venta.

Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Contiene material suficiente para <n> análisis
	Número de catálogo		Código de lote
	Fabricante		Fecha de caducidad
	Fecha de fabricación		Mantener protegido de la luz solar
	Marca CE	YYYY-MM-DD	Formato de fecha (Año-Mes-Día)
	Marca CE con número de identificación del organismo notificado	YYYY-MM	Formato de fecha (Año-Mes)
	Consultar las instrucciones de uso		Almacenar en posición vertical
	Precaución/Atención		Irritante
	Límite de temperatura		Fabricado en Luxemburgo

Información legal

FTD y todas las marcas asociadas son marcas comerciales de Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l. o de sus filiales. Todas las demás marcas comerciales y marcas pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2019–2021 Fast Track Diagnostics. Reservados todos los derechos.

Sede central de Siemens Healthineers



Siemens Healthcare GmbH
Henkestr. 127
91052 Erlangen
Germany
Phone: +49 9131 84-0
siemens-healthineers.com



Fabricante legal

Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l.
29, rue Henri Koch
L-4354 Esch-sur-Alzette
Phone: +352 281098-217

FTD™ Vesicular rash

Fecha y revisión actuales	11414195_es Rev. C, 2021-07		
Nombre del producto	FTD Vesicular rash (FTD-7.1-32)	REF 10921714	
	FTD Vesicular rash (FTD-7.1-64)	REF 10921715	
Tipos de muestra	Hisopos vesiculares		
Volumen de muestra procesado	200 µl requerido		

FTD Vesicular rash se validó con el sistema de PCR en tiempo real Thermo Fisher Scientific Applied Biosystems® 7500 y el NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux).

Contenido

Uso previsto	2
Resumen y explicación	2
Patógenos	3
Principios del procedimiento	4
Método	4
Reactivos	5
Advertencias y precauciones.....	5
Conservación y manipulación	6
Recogida y manipulación de las muestras	7
Recogida de la muestra.....	7
Conservación y transporte de la muestra.....	8
Procedimiento	9
Materiales suministrados	9
Materiales necesarios pero no suministrados	10
Procedimiento del ensayo	11
Criterios para un análisis válido	15
Resultados	16
Interpretación de los resultados	16
Limitaciones	19
Características de rendimiento.....	20
Sensibilidad analítica.....	20
Especificidad analítica	21
Inclusividad.....	24
Precisión	25
Sustancias interferentes.....	26

Rendimiento clínico	27
Resolución de problemas.....	28
Asistencia técnica.....	29
Referencias	30
Definición de los símbolos	31
Información legal.....	32

Uso previsto

FTD Vesicular rash es una prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la detección y la diferenciación de ácidos nucleicos víricos específicos en muestras de hisopos vesiculares de origen humano.

La prueba está concebida como una ayuda para el diagnóstico de infecciones causadas por virus del herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) y el virus de la varicela zóster (VZV).

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Resumen y explicación

En todo el mundo, las infecciones víricas causan un porcentaje significativo de trastornos cutáneos en seres humanos. Las enfermedades víricas de la piel se manifiestan habitualmente con exantema (erupción cutánea), que a menudo va acompañada de enantema (lesiones que afectan a la membrana mucosa).¹ Los virus del herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) y el virus de la varicela zóster (VZV) son virus del herpes neurotrópicos, tipo alfa, que suelen adquirirse en la infancia. Los virus pueden volverse latentes después de la infección primaria y persistir en el huésped durante toda la vida.² La reactivación del VZV desde su estado latente causa el herpes zóster (culebrilla), que provoca erupciones cutáneas vesiculares dolorosas en las personas. La reactivación del virus del herpes simple produce lesiones (calenturas) bucales, nasales u oculares en los sitios de infección por HSV-1, pero la enfermedad también se manifiesta con frecuencia en otras partes del cuerpo, como la piel y la mucosa genitales, con la infección por HSV-2.^{2,3} La transmisión del virus de la varicela se produce cuando una persona con varicela activa propaga el virus por contacto con el líquido de las vesículas de la erupción.⁴ Los virus del herpes simple se contagian por contacto con las lesiones del herpes, la superficie de las mucosas, las secreciones genitales o las secreciones bucales de personas infectadas.

FTD Vesicular rash detecta los ácidos nucleicos víricos del HSV-1, HSV-2 y VZV de hisopos vesiculares de origen humano, como una ayuda en la evaluación de las infecciones cutáneas (consulte *Características de rendimiento - Inclusividad* apartado en la página 24).

Patógenos

Los virus del herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) son virus encapsulados de ácido desoxirribonucleico bicatenario (ADN) de la familia *Herpesviridae*.⁵ Estos virus establecen infecciones crónicas de por vida en los seres humanos. La infección inicial por HSV es con frecuencia clínicamente silenciosa, pero una mezcla de virus permanece latente en las neuronas periféricas y, cuando se reactiva, causa infecciones recurrentes en el huésped. La capacidad para reactivarse del estado latente al ciclo de replicación facilita la transmisión del HSV a nuevos huéspedes, a través del proceso de propagación vírica.³ La gravedad de la reactivación del HSV puede dar con frecuencia a una morbimortalidad importante, en especial en personas inmunodeprimidas; esto incluye infecciones del sistema nervioso central que provocan encefalitis vírica o meningitis linfocítica.³ La transmisión del HSV-2 ocurre principalmente por contacto sexual con una persona infectada, mientras que el HSV-1 se adquiere a través de secreciones bucales, como una infección de la mucosa durante la infancia. En los últimos años, cada vez más se notifican más casos de infecciones de transmisión sexual causadas por el HSV-1.⁶ Las infecciones por HSV conllevan un alto riesgo para las mujeres, especialmente durante el embarazo, ya que aumentan el riesgo de aborto espontáneo, parto prematuro y muerte fetal.⁷

FTD Vesicular rash detecta el HSV-1 y HSV-2 (consulte *Características de rendimiento - Inclusividad* apartado en la página 24).

El virus de la varicela zóster (VZV) es un virus de ADN bicatenario lineal que pertenece a la subfamilia α de la familia *Herpesviridae*. Se sabe que el virus tiene al menos siete clades (1-6 y 9).⁸ VZV es el agente etiológico de la varicela, un exantema muy contagioso, frecuente sobre todo durante la infancia tras la infección primaria con el virus. La reactivación del virus que persiste de forma latente en los ganglios sensoriales dorsales causa herpes zóster (culebrilla) en las personas infectadas. Durante la reactivación, el VZV produce herpes zóster, una erupción dolorosa de un exantema,⁹ y, en raras ocasiones, provoca también complicaciones neurológicas como meningitis, sin exantema.¹⁰ La varicela es muy contagiosa y se considera una de las enfermedades exantemáticas más frecuentes.⁹ Los estudios han demostrado el éxito continuado de una vacuna de VZV vivos atenuados (vacuna vOka) para la prevención de la varicela y herpes zóster.^{8,11}

FTD Vesicular rash detecta las clades 1-6 y 9 del VZV (consulte *Características del rendimiento - Inclusividad* apartado en la página 24).

Principios del procedimiento

Método

Esta prueba es un proceso basado en la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) para la detección de patógenos en muestras humanas.

En una primera fase, los ácidos nucleicos deben extraerse de los tipos de muestras indicados en el apartado *Uso previsto*, con la adición del control interno (IC).

El eluido con los ácidos nucleicos purificados de los patógenos se añade a una mezcla maestra para activar la reacción de RT-PCR. La mezcla maestra contiene enzima, tampón, desoxirribonucleótido trifosfato (dNTP), cebadores y sondas sintéticos específicos para las secuencias diana. La ventaja de utilizar varios pares de cebadores/sondas en una única mezcla de reacción es detectar simultáneamente diferentes dianas en una reacción.

En presencia de la diana, los cebadores y las sondas se hibridarán con la secuencia específica y permitirán la amplificación por la polimerasa. Las diferentes sondas incluyen colorantes fluorescentes y desactivadores de fluorescencia en estrecha proximidad, lo que limita la fluorescencia emitida. Sin embargo, durante la amplificación, la polimerasa extiende la nueva cadena y degrada la sonda marcada con el colorante fluorescente, gracias a su actividad de exonucleasa. Esto separa el colorante fluorescente del desactivador de fluorescencia, lo que permite la emisión de la fluorescencia.

El nivel de fluorescencia aumenta con la generación de amplicones y es proporcional a la cantidad de ácidos nucleicos del patógeno contenidos en la muestra. El termociclador en tiempo real notifica el aumento del nivel de fluorescencia como un valor de umbral del ciclo (Ct).

El ensayo utiliza el citomegalovirus de ratón (MCMV) como control interno (IC), que se introduce en cada muestra y en el control negativo (NC) durante el proceso de extracción. El IC se extrae, se procesa y se amplifica simultáneamente con cada muestra, con el fin de monitorizar el proceso de extracción y poder identificar la inhibición de la PCR.

El NC también se procesa como una muestra (extracción y RT-PCR) y confirma la ausencia de contaminación.

El kit Vesicular rash también contiene un control positivo (PC), que se añade a cada análisis de RT-PCR. El PC monitoriza el proceso de RT-PCR y el rendimiento de los cebadores y las sondas.

Reactivos

Advertencias y precauciones

Para obtener las fichas de datos de seguridad (SDS), consulte siemens-healthineers.com. Es necesario cumplir estrictamente las siguientes advertencias y precauciones al utilizar FTD Vesicular rash.



WARNING (ATENCIÓN)

El IC contiene tampón de lisis.



WARNING (ATENCIÓN)

Internal Ctrl:

Ingrediente peligroso: Ácido maleico (0,1 % [w/w])

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

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

P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P362+P364: Quitarse y lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.

Requisitos para la manipulación

- El uso de este producto debe limitarse al personal formado en las técnicas de PCR.
- Tome las precauciones habituales necesarias para la manipulación de todos los reactivos de laboratorio.
- **Para muestras de pacientes solamente:**
 - Desinfecte los vertidos de inmediato con una solución de hipoclorito sódico al 0,5 % (1:10 v/v de lejía) o un desinfectante equivalente.
- **Para todos los reactivos:**
 - Desinfecte los vertidos de inmediato con Microcide SQ. No utilice lejía.
- Trate el material contaminado como biopeligroso.
- Durante el procedimiento del ensayo, use equipo de protección personal, incluidos guantes desechables. Lávese bien las manos después de quitarse los guantes y deseche los guantes como residuo biopeligroso.
- Cámbiese los guantes con regularidad para reducir al mínimo el riesgo de contaminación por arrastre.

- NO:
 - Coma, beba, fume ni se aplique cosméticos en las zonas donde se manipulen los reactivos o las muestras.
 - Pipetee con la boca.
 - Utilice los reactivos si están turbios después de equilibrarlos a la temperatura especificada.
 - Utilice los componentes después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del kit.
 - Intercambie las tapas de los viales o frascos, ya que podría producirse contaminación cruzada.
- Evite el uso de objetos afilados siempre que sea posible.
 - Si se expone la piel o la membrana mucosa a los materiales, lave inmediatamente la zona con abundante agua y acuda a un médico.
- Utilice todos los instrumentos y dispositivos de pipeteo con cuidado, y siga las instrucciones del fabricante para la calibración y el control de calidad.
- Evite la contaminación de los reactivos y las muestras.
 - Utilice puntas de pipeta resistentes a los aerosoles, y use una punta nueva cada vez que se dispense un volumen.
- No mezcle reactivos de kits con diferente número de lote.
- Deseche los materiales peligrosos o biológicamente contaminados de acuerdo con las prácticas del centro. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable, de conformidad con todos los requisitos normativos nacionales, regionales y locales.

Conservación y manipulación

Conserve los componentes de este producto FTD en su envase original, a una temperatura de -30 °C a -10 °C. Los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja exterior.

Congele el producto inmediatamente después de usarlo. Los reactivos admiten hasta 10 ciclos de congelación-descongelación.

Recogida y manipulación de las muestras

En este apartado se describen las prácticas generales del sector para la manipulación y conservación de muestras de vesículas, que ayudan a obtener resultados exactos con las pruebas.

Esta prueba está concebida para utilizarse con ácido nucleico extraído de hisopos vesiculares de origen humano.

La detección de patógenos causantes de exantemas depende de la recogida de muestras de alta calidad, de su transporte rápido al laboratorio y de su conservación y tratamiento adecuados antes de realizar las pruebas de laboratorio. Lleve la muestra al laboratorio inmediatamente después de su recogida y procésela/analícela tan pronto como sea posible, ya que varios patógenos son sensibles a los factores externos. Etiquete todas las muestras debidamente y de acuerdo con el procedimiento de laboratorio. La manipulación correcta de las muestras es muy importante para evitar la degradación del ADN vírico o bacteriano (según las recomendaciones de los CDC¹³).



CAUTION (PRECAUCIÓN)

Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes potencialmente infecciosos.

Siga las precauciones universales, como el uso de equipo de protección personal y guantes desechables. Lávese bien las manos después de quitarse los guantes y deseche los guantes como residuo biopeligroso.

Antes de la recogida de las muestras, no se requiere ninguna preparación especial del paciente. No es necesario el tratamiento previo de las muestras para su almacenamiento.

Recogida de la muestra

Recoja todas las muestras de acuerdo con la técnica estándar del laboratorio o el médico.

Hisopos vesiculares

Obtenga los hisopos vesiculares directamente del lugar de la infección (vesículas frescas o con formación reciente de corteza) para evitar la contaminación con la microbiota circundante. Los CDC¹³ recomiendan a los médicos que obtengan el material de la base de la lesión (debajo de la corteza) con una aguja estéril para quitar la parte superior de la vesícula.

Conservación y transporte de la muestra

Los hisopos vesiculares deben refrigerarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante un máximo de 48 horas. Se recomienda transportar en hielo húmedo o paquetes de gel refrigerante. Mantenga las muestras congeladas a una temperatura de -70 °C o menos para su conservación a largo plazo (según las recomendaciones de los CDC¹⁴).

NOTAS:

- Las indicaciones anteriores de almacenamiento y envío de las muestras son solo recomendaciones. Consulte las normativas locales y las políticas del centro.
- Embale y etiquete la muestra de conformidad con las normativas locales e internacionales relativas al transporte de muestras clínicas y agentes etiológicos.

Procedimiento

Materiales suministrados

Tabla 1 se especifican los componentes de FTD Vesicular rash.

Tabla 1: Componentes de FTD Vesicular rash

Reactivo	Composición	Descripción/Cantidad	Conservación
Vesic PP Mix	Oligonucleótidos sintéticos, tampón	Mezcla PP para HSV-1, HSV-2, VZV y el IC 32 reacciones: 1 x 48 µl 64 reacciones: 2 x 48 µl	Entre -30 °C y -10 °C
Vesic PC	Moléculas de ADN bicatenario circular, tampón, agentes estabilizantes	Mezcla de plásmidos para HSV-1, HSV-2 y VZV 32 reacciones: 1 x 150 µl 64 reacciones: 2 x 150 µl	
Negative Ctrl	Agua sin nucleasas	— 32 reacciones: 1 x 2000 µl 64 reacciones: 1 x 4000 µl	
Internal Ctrl	Moléculas de ADN bicatenario circular, tampón, cloruro de guanidinio <5,0 %, ácido maleico <0,1 %	— 32 reacciones: 1 x 128 µl 64 reacciones: 2 x 128 µl	
25x RT-PCR Enz.	Enzimas, tampón, glicerol, inhibidores de la ribonucleasa (RNasa), agentes estabilizantes	Mezcla enzimática para RT-PCR, 25x 32 reacciones: 1 x 32 µl 64 reacciones: 2 x 32 µl	
2x RT-PCR Buff.	Tampón Tris-ácido clorhídrico (Tris-HCl), desoxiadenosina trifosfato (dATP), desoxicitidina trifosfato (dCTP), desoxiguanosina trifosfato (dGTP), desoxitimidina trifosfato (dTTP), adyuvantes de la PCR	Tampón para RT-PCR, 2x 32 reacciones: 1 x 400 µl 64 reacciones: 2 x 400 µl	

Leyenda: PP = Cebador/sonda, PC = Control positivo, Ctrl = Control, Enz. = Enzima, Buff. = Tampón

Cada vial contiene volumen adicional para la imprecisión del pipeteo. El número de lote se indica en la caja y en cada vial.

Los reactivos de los kits son suficientes para 32 o 64 reacciones. Cada kit incluye componentes de IC, NC y Componentes del PC.

REF	Contenido	Número de reacciones
10921714 (FTD-7.1-32)	FTD Vesicular rash	32
10921715 (FTD-7.1-64)	FTD Vesicular rash	64

Materiales necesarios pero no suministrados

El kit se validó en el Applied Biosystems® 7500, utilizando NucliSENS® easyMAG® como método de extracción.

Para la extracción con NucliSENS® easyMAG® se necesitan los reactivos siguientes:

N.º de referencia del proveedor	Contenido
280133	NucliSENS® easyMAG®, Magnetic Silica Beads
280134	NucliSENS® easyMAG®, Lysis Buffer
280130	NucliSENS® easyMAG®, Extraction Buffer 1
280131	NucliSENS® easyMAG®, Extraction Buffer 2
280132	NucliSENS® easyMAG®, Extraction Buffer 3
N/A	Agua sin nucleasas
280135	NucliSENS® easyMAG®, Disponibles

NOTA: Póngase en contacto con el fabricante (bioMérieux) para obtener información específica sobre los números de referencia.

Consumibles y equipo general de laboratorio

- Micropipeta ajustable con capacidad para dispensar 1000 µl, 200 µl, 100 µl, 20 µl y 10 µl
- Puntas de pipeta desechables y resistentes a los aerosoles, envasadas estériles
- Guantes desechables, sin talco
- Mezclador vórtex
- Centrífuga de sobremesa
- Gradilla de muestras
- Dispositivos/material de recogida de muestras
- Lejía/Microcide (u otro producto, de acuerdo con el procedimiento de limpieza de laboratorio)
- Placas de 96 pocillos para PCR y selladores de placa
- Tubos

Procedimiento del ensayo

Extracción con el sistema NucliSENS® easyMAG®

Para preparar la muestra:

1. Descongele el control negativo (NC) y el control interno (IC).
2. Antes de usarlos, asegúrese de que los reactivos hayan alcanzado la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C); mezcle el NC y el IC (mediante agitación breve en vórtex) y centrifugue brevemente.
3. Prepare las muestras para el procedimiento de extracción (descongele a temperatura ambiente, si procede).

La Tabla 2 muestra los volúmenes recomendados.

Tabla 2: Volúmenes de extracción recomendados

Tipo	Volumen
Volumen de muestra	200 µl
Volumen de elución	55 µl

4. Añada las muestras a los componentes desechables.
5. Programe la máquina según corresponda.
6. Seleccione **DISPENSE LYSIS (DISPENSAR LISIS)** para que se dispense el tampón de lisis y para iniciar el paso de incubación. Durante el periodo de incubación, prepare las microesferas como se describe en el manual de NucliSENS® easyMAG®.
7. Una vez que finalice la incubación, añada 2 µl de IC directamente a la mezcla de tampón de lisis y muestra.
8. Añada microesferas a cada pocillo del componente desechable y realice el protocolo de extracción.



WARNING (ATENCIÓN)

- No añada nunca el IC antes de añadir el tampón de lisis.
- No añada nunca el IC después de la extracción.
- La adición del IC a cada una de las muestras y al NC es un paso importante para monitorizar la extracción de los ácidos nucleicos y la inhibición de la amplificación de los ácidos nucleicos.
- No extraiga el control positivo.

Preparación de la PCR en tiempo real

Preparación de un experimento para el Applied Biosystems® 7500

Para preparar el experimento:

1. Antes de usarlos, los reactivos deben descongelarse por completo, mezclarse (mediante agitación breve en vórtex) y centrifugarse brevemente.

Excepción:

- La enzima para RT-PCR 25x debe almacenarse entre -30 °C y -10 °C, o en un bloque de enfriamiento en todo momento.
- Positive Control (Control positivo): Descongele el PC y consérvelo a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) durante 20 a 30 minutos. Agite bien el PC en un mezclador vórtex antes de usarlo.

Tabla 3: Volumen de reactivos necesario para 1, 9, 32 y 64 reacciones

Número de reacciones	1	9	32	64
Tampón para RT-PCR 2x	12,5 µl	112,5 µl	400 µl	800 µl
Mezcla de cebador/sonda	1,5 µl	13,5 µl	48 µl	96 µl
Enzima para RT-PCR 25x	1 µl	9 µl	32 µl	64 µl
Total	15 µl	135 µl	480 µl	960 µl

2. Prepare un tubo aparte de 1,5 ml por mezcla de cebador/sonda y etiquételo debidamente. Pipetee la cantidad necesaria de tampón para RT-PCR 2x en función del número de reacciones (consulte la Tabla 3).
3. Pipetee la cantidad necesaria de Vesic PP Mix en el tubo correspondiente que contiene tampón para RT-PCR 2x (consulte la Tabla 3).
4. **Preparación de la mezcla maestra**

NOTAS:

- Con el fin de obtener volúmenes adecuados y evitar que se desperdicie material, no sumerja la punta completa en el líquido cuando pipetee la enzima para RT-PCR 25x.
 - Pipetee el líquido muy lentamente para evitar burbujas de aire.
 - Antes de dispensar el líquido, limpie la punta contra el borde del recipiente para eliminar el exceso de líquido del exterior de la punta.
 - Cambie la punta después de cada paso de pipeteo.
- a. Pipetee la cantidad necesaria de enzima para RT-PCR 25x en cada tubo que contenga Vesic PP Mix y tampón para RT-PCR 2x (consulte la Tabla 3).
 - b. Agite brevemente la mezcla maestra en un mezclador vórtex y centrifúguela.
 - c. Utilice la mezcla maestra de inmediato y no la guarde después de su uso.

Prepare una placa de 96 pocillos para el Applied Biosystems® 7500

NOTA: Cada mezcla maestra en la placa debe tener un PC y NC correspondientes para realizar el análisis.

Consulte la Figura 1 para ver un ejemplo de la colocación de las muestras de paciente y los controles.

Figura 1: Muestras y controles - Ejemplo de mapa de placa

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

Leyenda: Amarillo = Mezcla maestra Vesic (A1-H1) · PC = Control positivo (G1) · NC = Control negativo (H1)

Para preparar una placa de 96 pocillos (compatible con el Applied Biosystems® 7500):

1. Pipetee 15 µl de la mezcla maestra Vesic en los pocillos A1 a H1.
2. Añada 10 µl de las muestras extraídas a los pocillos A1 a F1.
3. Añada 10 µl del PC al pocillo G1.
4. Añada 10 µl del NC extraído al pocillo H1.
5. Selle la placa con la película adhesiva adecuada.
6. Agite suavemente la placa en un mezclador vórtex y después centrifugue brevemente.
7. Coloque la placa en el Applied Biosystems® 7500.

NOTA: Consulte las instrucciones de uso del fabricante del Applied Biosystems® 7500.

Programa el termociclador

En la Tabla 4 se indican las longitudes de onda de detección de los colorantes utilizados en este kit.

Tabla 4: Programación del detector

PP Mix y ajustes de detección del termociclador			
	Mezcla maestra	Colorante	Longitud de onda de detección (nm) ^[a]
	Vesic		
Patógeno	HSV-1	verde	520
	HSV-2	amarillo	550
	VZV	rojo	670
Control interno	MCMV	naranja	610

[a] Las longitudes de onda de detección indicadas se obtuvieron del Applied Biosystems® 7500. Las longitudes de onda pueden ser diferentes en otros termocicladores.

NOTA: Cambie el ajuste para el colorante passive reference (referencia pasiva) a **NONE (NINGUNO)** (el colorante ROX está seleccionado de forma predeterminada).

Programa de PCR

La tabla siguiente detalla los pasos de programación del termociclador.

Fase	Ciclos	Adquisición	Temperatura	Tiempo
Retención	/	/	50 °C	15 minutos
Retención	/	/	94 °C	1 minuto
Termociclado	40	/	94 °C	8 segundos
		Sí	60 °C	1 minuto

Para atención al cliente, póngase en contacto con el distribuidor o el proveedor de asistencia técnica de su zona.

Finalización del análisis

Retire la placa de PCR sellada, siguiendo las instrucciones del fabricante del termociclador. Revise los resultados y deseche la placa de PCR como residuo biopeligroso, conforme a los requisitos normativos locales.

Criterios para un análisis válido

El análisis se considera válido y los resultados del paciente se notifican si se cumplen todas las condiciones siguientes:

1. El NC no mostrará ninguna traza de amplificación aparte de la del IC. Si hay una posible contaminación (aparición de una curva en el NC o un grupo de curvas en las muestras con un valor de Ct alto^[1]), los resultados obtenidos no se pueden interpretar y es necesario repetir el análisis completo (incluida la extracción).
2. El PC debe mostrar una amplificación positiva para cada patógeno (es decir, HSV-1, HSV-2 y VZV) detectado en el kit. Para cada patógeno, el valor de Ct debe ser inferior a 33. El canal de detección de cada patógeno se identifica en la Tabla 5.
3. Todas las muestras y NC (o cada material extraído) deben mostrar un registro de amplificación positiva para el IC. El valor de Ct del IC debe estar por debajo de 33. El IC viene representado en el canal de detección naranja.



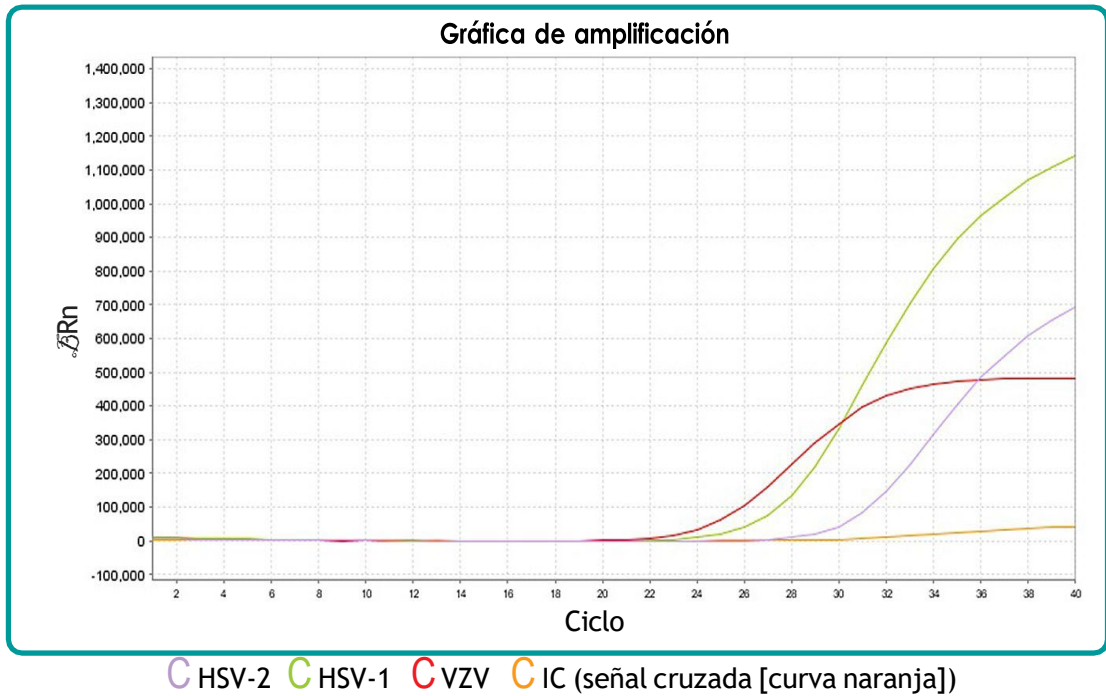
CAUTION (PRECAUCIÓN)

En el PC puede observarse una cuarta curva. Se mostrará como una curva baja justo por encima de la línea del umbral de señal. Esta curva en el PC se produce debido a una señal cruzada del colorante de HSV-2, que no invalida el control positivo. El ejemplo típico de la curva de señal cruzada se representa como la curva naranja en la Figura 2 a continuación.

El usuario debe descartar esta señal cruzada al evaluar la validez del control positivo y asegurarse de que se cumplan los criterios de validez del control positivo indicados anteriormente en el apartado *Criterios para un análisis válido*. Si se no se cumplen los criterios de un análisis válido, consulte el apartado *Resolución de problemas*, Tabla 15 de estas instrucciones de uso.

[1] Muestras con un valor de Ct por encima de 35.

Figura 2: Ejemplo típico de señal cruzada en un control positivo (PC)



Resultados

Interpretación de los resultados

En la Tabla 5 se detallan los posibles resultados con FTD Vesicular rash.

Tabla 5: FTD Vesicular rash - Resultados posibles

PP Mix	Patógeno	Control interno	Señal en el canal verde	Señal en el canal amarillo	Señal en el canal naranja	Señal en el canal rojo
Vesic	HSV-1		POS	—	—	—
	HSV-2		—	POS	—	—
	VZV		—	—	—	POS
		MCMV		—	—	POS

Legenda: POS = positivo; vacío = negativo

Los resultados se notificarán en unidades de umbral de ciclo (Ct).

Si se cumplen los criterios indicados en el apartado *Criterios para un análisis válido*, se considerará positiva cualquier muestra de paciente que tenga un trazado exponencial para uno de los patógenos diana del kit. La ausencia de un trazado exponencial indica la ausencia o una carga indetectable de ácidos nucleicos.

Por ejemplo, si una muestra de paciente analizada con la mezcla maestra Vesic (consulte la tabla 5) presenta un trazado exponencial de fluorescencia en los siguientes canales:

- Canal verde: Esta muestra contiene una carga detectable de ADN de HSV-1, y carece o no tiene una carga detectable de ADN de HSV-2 y VZV.
- Canal amarillo: Esta muestra contiene una carga detectable de ADN de HSV-2, y carece o no tiene una carga detectable de ADN de HSV-1 y VZV.
- Canal rojo: Esta muestra contiene una carga detectable de ADN de VZV, y carece o no tiene una carga detectable de ADN de HSV-1 y HSV-2.

También es posible tener varios trazados exponenciales de fluorescencia en las mismas muestras. Según el color de la señal, indicará la presencia de ácidos nucleicos de HSV-1, HSV-2 o VZV.

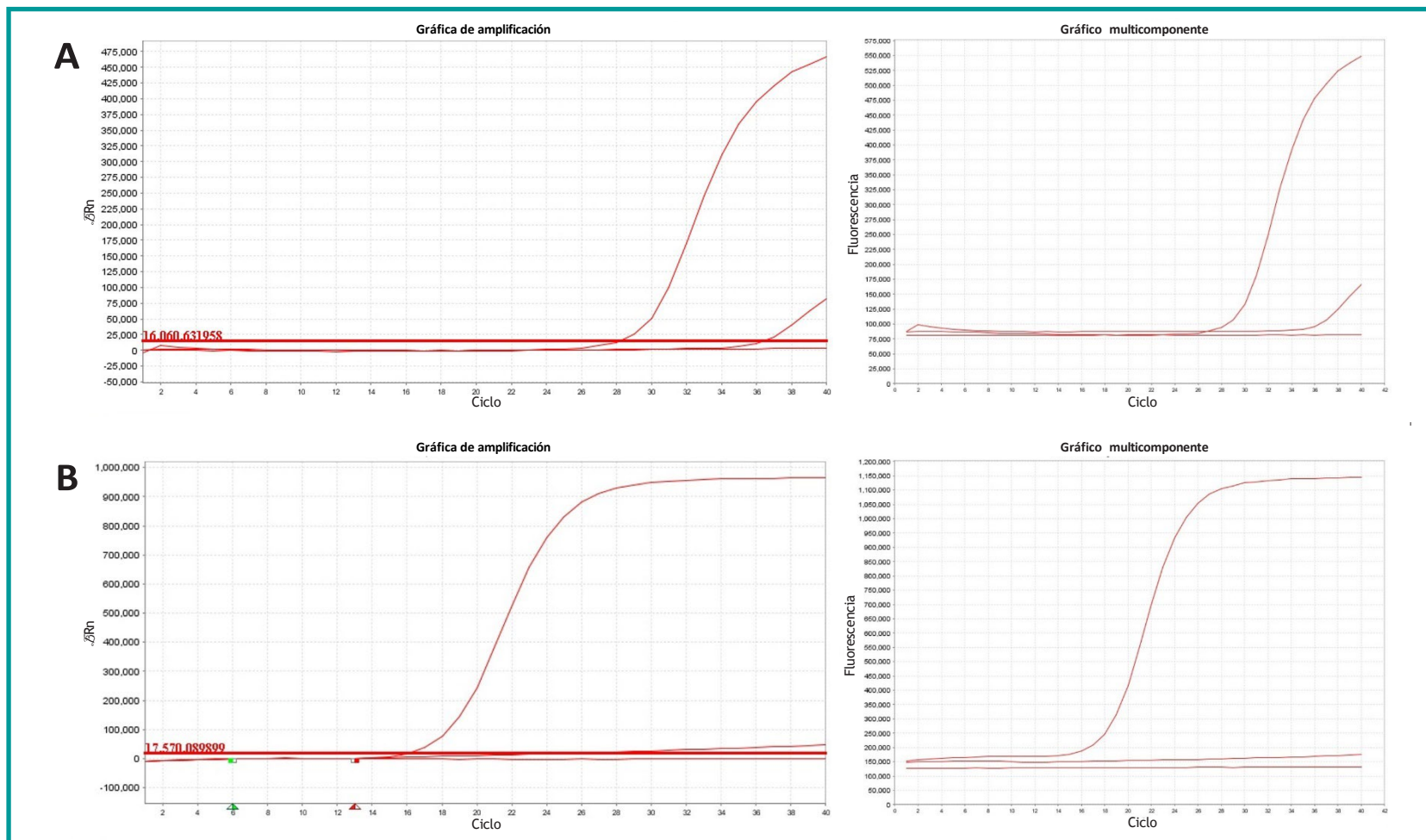
El IC debe ser positivo para cada material extraído (muestras y NC).

¡IMPORTANTE! Preste atención al apartado siguiente para obtener información importante sobre los ajustes de la línea base y los gráficos multicomponente.

Ajuste de la línea base y gráfico multicomponente

La línea base de la curva de amplificación es uno de los parámetros que pueden afectar a los resultados de la PCR. Si la línea base está definida incorrectamente, se puede mostrar un valor de Ct aunque no se haya producido una amplificación real. La Figura 3 ilustra la diferencia entre una amplificación real (A) y un ajuste incorrecto de la línea base con un valor de Ct aunque no se haya producido amplificación (B).

Figura 3: Comparación entre una señal de amplificación real (A) y un ajuste incorrecto de referencia (B)



Compruebe siempre las representaciones de la señal en el gráfico multicomponente y cerciórese de que la línea base esté bien ajustada antes de concluir que un trazado de amplificación es exponencial. El gráfico multicomponente muestra la contribución espectral total de cada colorante y ayuda a revisar la señal del colorante informante en busca de picos, descensos u otros cambios repentinos. Póngase en contacto con el fabricante del equipo o con Fast Track Diagnostics para obtener indicaciones para configurar correctamente la línea base.

Limitaciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

- El rendimiento del kit únicamente se ha verificado y validado con los procedimientos que se describen en las instrucciones de uso. Las modificaciones en estos procedimientos puede alterar el rendimiento de la prueba.
- El análisis de otros tipos de muestras (que no sean los indicadas en el apartado *Uso previsto*) puede dar lugar a resultados inexactos. No se han validado otros tipos de muestras.
- Las instrucciones proporcionadas de almacenamiento y envío de las muestras son recomendaciones. No se dispone de datos de verificación y validación para la recogida y la manipulación (transporte y conservación) de las muestras.
- Este es un kit cualitativo que no proporciona una cuantificación de los patógenos detectados en la muestra. No hay correlación entre los valores de Ct obtenidos y la cantidad de patógenos en la muestra recogida.
- Tenga en cuenta que el rendimiento de este kit puede variar entre poblaciones específicas, como pacientes inmunodeprimidos o personas que no muestran síntomas de infección cutánea (vesículas), ya que la prueba no se ha verificado ni validado específicamente para esas poblaciones.
- Otros parámetros pueden dar lugar a resultados positivos o negativos falsos, o no válidos, relacionados con la patología del paciente (uso de tratamiento antiviral, edad del paciente, antecedentes de enfermedades infecciosas, presencia de síntomas y estadio de la infección en el paciente).
- Podrían detectarse niveles bajos de virus, inferiores al límite de detección. Sin embargo, es posible que los resultados no sean reproducibles.
- Esta prueba no será el único elemento consultado para el diagnóstico o la decisión de tratamiento. Una muestra en la que no se haya detectado el patógeno no puede considerarse negativa para este patógeno, ya que los resultados dependen de distintas variables, como se ha explicado antes.
- Esta prueba no está concebida para sustituir una exploración médica realizada por un profesional, y los resultados deben interpretarse junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio (p. ej., la historia clínica, los datos epidemiológicos u otros datos) de los que disponga el médico responsable de examinar al paciente.
- El fracaso o el éxito terapéutico no puede determinarse con este kit, ya que el ADN del patógeno puede persistir después del tratamiento antivírico adecuado. La detección de la diana del patógeno no implica que el patógeno correspondiente sea infeccioso o la causa de los síntomas clínicos.
- Aunque son poco frecuentes, pueden producirse mutaciones en las regiones más conservadas de las dianas de los virus detectados por el kit. Como consecuencia, las combinaciones de cebador y sonda pueden fracasar a la hora de detectar la presencia de estos virus.
- La detección de los patógenos puede verse afectada por la presencia de inhibidores distintos de los especificados en el apartado *Características de rendimiento*.

Características de rendimiento

Las características de rendimiento muestran los datos de rendimiento clínico y analítico de FTD Vesicular rash.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es la capacidad del kit para detectar sistemáticamente una secuencia diana determinada en las muestras biológicas analizadas. La concentración mínima detectable en un porcentaje mayor o igual al 95 % de las muestras analizadas se define como «Límite de detección» (LD).¹²

El LD de FTD Vesicular rash se determinó empíricamente analizando diluciones seriadas del material cuantificado. La Tabla 6 muestra una lista completa de los productos utilizados en el estudio de sensibilidad analítica.

Tabla 6: Productos utilizados para la determinación del LD FTD Vesicular rash

Patógenos	Producto	Proveedor
HSV-1	AMPLIRUN® HERPES SIMPLEX 1 DNA CONTROL	Vircell S.L.
HSV-2	AMPLIRUN® HERPES SIMPLEX 2 DNA CONTROL	
VZV	AMPLIRUN® VARICELLA-ZOSTER VIRUS DNA CONTROL	

Para determinar la sensibilidad analítica específica del patógeno, se realizaron diluciones seriadas con un mínimo de 24 réplicas por patógeno y paso de dilución. Este análisis se llevó a cabo con diferentes instrumentos y operadores, en días distintos. El LD de cada patógeno se evaluó mediante análisis de regresión Probit (PROBability unITS) (consulte la Tabla 7). Al utilizarse ADN extraído para determinar el LD, el resultado se da en copias del genoma por mililitro de eluido.

Tabla 7: Sensibilidad analítica de FTD Vesicular rash

Patógeno	Unidades	LD del análisis Probit	Intervalo de confianza del 95 %
HSV-1	cop.gen/ml	1,6 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴ - 1,9 x 10 ⁴
HSV-2	cop.gen/ml	1,9 x 10 ⁴	1,4 x 10 ⁴ - 2,4 x 10 ⁴
VZV	cop.gen/ml	3,8 x 10 ³	2,8 x 10 ³ - 4,9 x 10 ³

Leyenda: cop.gen/ml = copias del genoma por mililitro

Los resultados del análisis Probit se confirmaron después analizando 24 réplicas a una concentración equivalente al límite superior de confianza indicado en la Tabla 7. Este estudio de confirmación del LD se llevó a cabo con diferentes instrumentos, operadores y lotes de reactivos. Todos los patógenos mostraron una tasa de detección superior al 95 %.

Especificidad analítica

La especificidad analítica de un ensayo de PCR multiplex es la capacidad de una medición para determinar exclusivamente el parámetro medido.¹² La especificidad analítica se refiere a:

- Reactividad cruzada: La capacidad de la prueba para detectar específicamente los patógenos deseados (incluidos los subtipos relevantes cuando se especifica), pero ningún otro microorganismo en las muestras biológicas.
- Especificidad: La garantía de que la prueba no va a comunicar resultados positivos falsos cuando se analicen muestras negativas.

La especificidad analítica de FTD Vesicular rash se validó mediante un análisis *in silico* y pruebas *in vitro*, tal como se detalla a continuación.

Reactividad cruzada

Análisis *in silico*

La especificidad de FTD Vesicular rash se determinó mediante un análisis *in silico*, aplicando la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Se buscaron regiones de similitud en todos los cebadores y sondas de este ensayo, analizando la base de datos completa de la colección de nucleótidos del NCBI (proteína no redundante [nr]/nucleótido no redundante [nt]), excluyendo las secuencias que pertenecen al microorganismo diana. Se utilizó una similitud de secuencias de al menos un 90 % con las secuencias del ensayo correspondientes (cebador/sonda) como criterio de asignación para detectar posibles coincidencias que producían amplicones. Se permitió un máximo de cuatro discrepancias entre la secuencia de oligonucleótidos y la secuencia diana durante la asignación de los cebadores y las sondas.

Los resultados del análisis *in silico* se muestran en la Tabla 8. Los datos no muestran reactividad cruzada para FTD Vesicular rash.

Tabla 8: Reactividad cruzada de FTD Vesicular rash

Patógenos	Posible reactividad cruzada
HSV-1	No hay posible reactividad cruzada
HSV-2	
VZV	

Análisis in vitro

FTD Vesicular rash se analizó *in vitro* para detectar posibles reacciones cruzadas con microorganismos de la flora humana normal y microorganismos patógenos que causan infecciones cutáneas. Las pruebas de reactividad cruzada se llevaron a cabo utilizando varias mezclas de muestras artificiales. Se añadió a cada mezcla un máximo de cinco patógenos. Las mezclas se extrajeron con NucliSENS® easyMAG® y se evaluaron por triplicado en el Applied Biosystems® 7500.

La lista de patógenos analizados se muestra en la Tabla 9, junto con la información del cultivo, la concentración analizada y los resultados del análisis. No se detectó ninguna señal inespecífica.

Tabla 9: Panel de especificidad cruzada analizado con FTD Vesicular rash

Diana	Proveedor	Número de catálogo	Concentración analizada	Unidades	Resultado
<i>Acinetobacter baumannii</i>	American Type Culture Collection (ATCC®)	19606	8,00E+04	UFC/ml	No detectado
<i>Bacteroides fragilis</i>		25285	1,82E+05	UFC/ml	No detectado
Virus BK		VR-837	1,67E+03	TCID50/ml	No detectado
<i>Candida albicans</i>		14053	4,18E+06	UFC/ml	No detectado
<i>Cytomegalovirus</i>		VR-1788	7,80E+04	TCID50/ml	No detectado
<i>Enterobacter aerogenes</i> ; serotipo Cloaca B		13048	3,68E+05	UFC/ml	No detectado
<i>Enterobacter cloacae</i> ; serotipo Cloaca A		13047	2,00E+04	UFC/ml	No detectado
<i>Enterococcus faecalis</i>		19433	3,40E+07	UFC/ml	No detectado
<i>Enterococcus faecium</i> ; cepa NCTC 7171		19434	6,60E+07	UFC/ml	No detectado
Enterovirus; ecovirus humano 1; cepa Farouk		VR-1808	2,80E+05	TCID50/ml	No detectado
<i>Escherichia coli</i> ; Migula		35218	7,40E+06	UFC/ml	No detectado
<i>Haemophilus influenzae</i> ; AMC 36-A-3		9006	>2,00E+02	UFC/ml	No detectado

Tabla 9: Panel de especificidad cruzada analizado con FTD Vesicular rash (continuación)

Diana	Proveedor	Número de catálogo	Concentración analizada	Unidades	Resultado
virus del herpes humano 6A		19012306R	5,00E+04	cop/ml	No detectado
virus del herpes humano 6B	Diagnóstico exacto	19012312R	5,00E+04	cop/ml	No detectado
virus del herpes humano 7 MFG stock		19012313R	9,99E+06	cop/ml	No detectado
Poliomavirus JC		VR-1583	>2,50E+03	TCID50/ml	No detectado
<i>Klebsiella oxytoca</i>		13182	>2,00E+02	UFC/ml	No detectado
<i>Listeria monocytogenes</i> ; 53 XXIII		15313	>2,00E+02	UFC/ml	No detectado
<i>Neisseria meningitidis</i> ; serogrupo A M1027	ATCC®	53417	1,95E+10	cop/ml	No detectado
Parecovirus tipo 3; parecovirus 1; cepa Harris		VR52	5,00E+03	TCID50/ml	No detectado
Parvovirus B19, Panel de genotipos del NIBSC: Miembro 1	National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)	09/110	3,98 log(10)	UI/ml	No detectado
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		10145	4,34E+07	UFC/ml	No detectado
<i>Streptococcus agalactiae</i> ; Z019		13813	6,80E+06	UFC/ml	No detectado
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ; Z022	ATCC®	33400	7,00E+03	UFC/ml	No detectado
<i>Treponema pallidum</i> ADN sintético		BAA-2642SD	>1,00E+06	cop/ml	No detectado
<i>Yersinia enterocolitica</i> ; subsp. <i>enterocolitica</i>		23715	2,32E+05	UFC/ml	No detectado

Legenda: UFC/ml = unidades formadoras de colonias por mililitro, cop/ml = copias por mililitro, TCID50 = mediana de la dosis infecciosa de cultivo tisular, UI/ml = unidades internacionales por mililitro

Material negativo

Se analizó material negativo (controles negativos extraídos, muestras clínicas negativas extraídas o controles sin plantilla) *in vitro* con el fin de evaluar la aparición de posible amplificación inespecífica durante el uso de FTD Vesicular rash. La especificidad analítica obtenida de cada patógeno se muestra en la Tabla 10. En total, se alcanzó una especificidad analítica del 100 %.

Tabla 10: Especificidad analítica de FTD Vesicular rash

Patógenos	Número de resultados positivos	Total de reacciones	Especificidad analítica (%)	Intervalo de confianza (%)
HSV-1	0	304	100	98,79-100
HSV-2	0	303		
VZV	0	304		
			100	Total*

*La especificidad total se calcula como el promedio de la especificidad analítica observada para cada patógeno individual.

Inclusividad

La inclusividad (o reactividad analítica) es la capacidad de un ensayo para detectar varias cepas o serotipos de una especie, varias especies de un género o un agrupamiento similar de microorganismos estrechamente relacionados.

La inclusividad se evaluó mediante análisis *in silico* de todas las secuencias disponibles del microorganismo diana en la colección de nucleótidos del NCBI. A continuación, se asignaron cebadores y sondas específicos a las secuencias para detectar posibles coincidencias que producían amplicones. Se admitió un máximo de cuatro discrepancias entre la secuencia de oligonucleótidos y la secuencia diana durante la asignación de los cebadores y las sondas, ya que la mayoría de las veces, incluso una coincidencia imperfecta produce emparejamiento y amplificación.

Los resultados de los análisis de inclusividad se resumen en la Tabla 11.

Tabla 11: Inclusividad de FTD Vesicular rash

Patógenos	Subtipos detectados
virus del herpes simple 1	Sin subtipos definidos
virus del herpes simple 2	
virus de la varicela zóster	Clades 1-6 y 9

Precisión

La precisión hace referencia a lo bien que puede reproducirse una medición cuando una prueba se aplica en forma reiteradamente a varias alícuotas de una misma muestra homogénea. La precisión de FTD Vesicular rash se evaluó mediante estudios de repetibilidad y reproducibilidad con un material de prueba con una concentración cercana al LD (consulte la Tabla 12). La repetibilidad evalúa mediciones llevadas a cabo en las mismas condiciones (variación intraensayo), mientras que la reproducibilidad evalúa los resultados de mediciones en condiciones modificadas (variación entre ensayos; es decir, tiempo, operador o lotes de producto). La precisión de cada estudio se expresó en función de las mediciones estadísticas de imprecisión (desviación estándar y coeficiente de variación).

Se analizaron muestras comerciales cuantificadas de cada patógeno a una concentración en el límite de detección con FTD Vesicular rash en el Applied Biosystems® 7500. Los resultados se obtuvieron en varios análisis y durante varios días. Los análisis los realizaron diferentes operadores en termocicladores distintos y utilizando diferentes lotes de mezcla PP. La Tabla 12 muestra los resultados del estudio de precisión. Los datos mostraron una imprecisión de la repetibilidad entre el 0,65 % y el 3,58 %, y una imprecisión de la reproducibilidad entre el 0,72 % y el 3,58 %.

Tabla 12: Estudio de precisión de FTD Vesicular rash

Patógeno	N	DE de repetibilidad (error)	DE de reproducibilidad	% CV de repetibilidad (error)	% CV de reproducibilidad ^[a]
HSV-1	24	0,70	0,86	1,97	2,40
HSV-2	24	0,21	0,23	0,65	0,72
VZV	23	1,28	1,28	3,58	3,58

Leyenda: N = Tamaño total de la muestra, DE = Desviación estándar, CV = Coeficiente de variación

Sustancias interferentes

Se llevó a cabo un estudio de interferencias para evaluar la probabilidad de que FTD Vesicular rash produzca resultados erróneos en presencia de posibles sustancias interferentes en una muestra clínica. Se añadieron todos los patógenos diana de una mezcla PP en concentraciones bajas a una matriz artificial, y después se dividió en alícuotas. A cada tubo se le añadió también una sustancia interferente, el eluyente o se dejó sin tratar. Las mezclas se extrajeron con NucliSENS® easyMAG® y se evaluaron utilizando triplicados técnicos y un lote de FTD Vesicular rash en el Applied Biosystems® 7500. La lista de sustancias analizadas y posibles interferencias se muestran en la Tabla 13. Los datos muestran que ninguna de las sustancias probadas interfiere con los resultados de la PCR.

Tabla 13: Posibles sustancias interferentes evaluadas

Sustancia	Proveedor	Concentración analizada	Resultados
Sangre completa	Biomex	5 % (v/v)	Sin interferencias
Mucina (bovina)	Sigma	60 µg/ml	
Calmante de aloe	Vaseline	1 % (v/v)	
Producto limpiador	Up&Up	1 % (v/v)	
Spray nasal (Xilo.)	Ratiopharm	10 % (v/v)	
Spray nasal (Salts)	Emsa	10 % (v/v)	
Nicotina	Sigma	6,2 µmol/l	
Aciclovir		290 µmol/l	
Benzocaína		3,8 mmol/l	
Foscarnet		750 µmol/l	

Leyenda: v/v = volumen a volumen, µg/ml = microgramos por mililitro, µmol/l = micromoles por litro, mmol/l = milimoles por litro, Xilo. = Xilometazolina

Rendimiento clínico

En un estudio de rendimiento clínico se analizaron 99 hisopos vesiculares previamente probados de hombres y mujeres adultos, lactantes y niños. El rendimiento clínico de FTD Vesicular rash se evaluó comparando los resultados de FTD Vesicular rash con los resultados obtenidos de una prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) CE-IVD de comparación que utilizaba un método de extracción NucliSENS® easyMAG® y el sistema de PCR en tiempo real Applied Biosystems® 7500.

Los resultados se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14: Sensibilidad y especificidad diagnóstica obtenida para los patógenos detectados por FTD Vesicular rash

Patógeno	Sensibilidad diagnóstica		Intervalo de confianza del 95 %	Especificidad diagnóstica		Intervalo de confianza del 95 %
	Porcentaje	Número total		Porcentaje	Número total	
HSV-1	100 %	28/28	87,66-100	100 %	71/71	94,94-100
HSV-2	100 %	25/25	86,28-100	100 %	74/74	95,14-100
VZV	100 %	26/26	86,77-100	95,89 % ^[a]	70/73 ^[a]	88,46-99,14
Total	100 %	79/79	95,44-100	98,62 %	215/218	96,03-99,72

[a] Las muestras discrepantes tenían valores de Ct de 31,3, 34,01 y 30,2, respectivamente.

Los resultados mostraron una sensibilidad diagnóstica general del 100 % (intervalo de confianza del 95 %: 95,44-100) y una especificidad diagnóstica general del 98,62 % (intervalo de confianza del 95 %: 96,03-99,72) para detectar el HSV-1, HSV-2 y VZV con FTD Vesicular rash.

Resolución de problemas

La Tabla 15 muestra una lista no exhaustiva de errores de control que un usuario puede observar con FTD Vesicular rash y las medidas correctivas recomendadas.

Tabla 15: Errores de control

Observación	Causa posible	Medida correctiva
El control positivo no se amplifica. Esto puede incluir uno de los siguientes escenarios:	Programación incorrecta del perfil de temperatura del termociclador.	Compare el perfil de temperatura con el del manual.
Escenario 1: Fallo de amplificación de uno (o de más uno) de los tres patógenos (HSV-1, HSV-2 y VZV) y, por lo tanto, no se observan las curvas de amplificación de uno (o de más de uno) de los tres patógenos.	Configuración incorrecta de la reacción de PCR.	<ul style="list-style-type: none"> · Confirme que los reactivos se hayan añadido en la secuencia correcta; repita la PCR si es necesario. · Compruebe la calibración de las pipetas.
Escenario 2: Presencia de un total de tres curvas de amplificación, pero una curva de amplificación es debida a una señal cruzada en el canal naranja. Esto puede ocurrir cuando el HSV-1 o VZV no se amplifica.	Manipulación incorrecta de los controles positivos.	Agitación inadecuada o ausencia de agitación en el mezclador vórtex, o el control no se descongeló debidamente a temperatura ambiente.
	Las condiciones de conservación de uno o más componentes del producto no se ajustaron a las instrucciones, o el kit de FTD ha caducado.	Compruebe las condiciones de conservación y la fecha de caducidad en la caja del kit. Deseche el kit si es necesario.

Tabla 15: Errores de control (continuación)

Observación	Causa posible	Medida correctiva
Señal del control interno débil o ausente (es decir, ausencia de curva de amplificación de IC o una curva de amplificación de IC muy baja)	Las condiciones de la PCR no cumplen el protocolo. La amplificación del IC se inhibió o la extracción del IC fue inadecuada.	Asegúrese de que el flujo de trabajo de extracción y amplificación se haya llevado a cabo tal como se indica. Repita el análisis si es necesario. Si el problema persiste, considere la presencia de material interferente en las muestras.
Curva(s) de amplificación no correspondientes al IC en el control negativo (es decir, el control negativo muestra más de una curva de amplificación, y una de las curvas de amplificación es debida al IC)	Contaminación durante la preparación de la placa de PCR o durante la extracción.	<ul style="list-style-type: none"> · Repita la preparación de la placa de PCR con reactivos, muestras y controles nuevos. · Repita el procedimiento de extracción con reactivos nuevos. · Para evitar la contaminación del PC, pipetee el control positivo en último lugar. · Descontamine el espacio de trabajo y los instrumentos después de cada uso.
Señal cruzada inespecífica en control positivo (es decir, presencia de cuatro curvas de amplificación en el control positivo. Tres de estas curvas de amplificación son para patógenos, y la cuarta curva se detecta en el canal naranja [consulte la Figura 2 en la página 16])	La señal inespecífica en el canal naranja por encima de la línea de umbral es debida a la señal cruzada del colorante de HSV-2.	Descarte la cuarta señal cruzada inespecífica del canal naranja en el pocillo del control positivo. Esta señal cruzada no invalida el control positivo.

Para atención al cliente, póngase en contacto con el distribuidor o el proveedor de asistencia técnica de su zona.

Asistencia técnica

Para atención al cliente, póngase en contacto con el distribuidor o el proveedor de asistencia técnica de su zona.

















siemens-healthineers.com

Referencias

1. Ramdass P, Mullick S, Farber HF. Viral Skin Diseases. *Primary Care*. 2015;42(4):517-567.
2. Kennedy P, Rovnak J, Badani H, Cohrs RJ. (2015) A comparison of herpes simplex virus type 1 and varicella-zoster virus latency and reactivation. *Journal of General Virology*. 2015;96(Pt 7):1581-1602.
3. Suzich JB, Cliffe AR. Strength in diversity: Understanding the pathways to herpes simplex virus reactivation. *Virology*. 2018;522:81-91.
4. Center for Disease Control (CDC) websites: <https://www.cdc.gov/std/herpes/stdfact-herpes-detailed.htm>, <https://www.cdc.gov/shingles/index.html> and <https://www.cdc.gov/chickenpox/index.html>). Accessed October 2018.
5. Steiner I, Kennedy PG, Pachner AR. The neurotropic herpes viruses: herpes simplex and varicella-zoster. *The Lancet Neurology*. 2007;6(11):1015-1028.
6. Thellman NM, Triezenberg SJ. Herpes Simplex Virus Establishment, Maintenance, and Reactivation: *In Vitro* Modeling of Latency. *Pathogens*. 2017;6(3):1-14.
7. Shi TL, Huang LJ, Xiong YQ, *et al*. The risk of herpes simplex virus and human cytomegalovirus infection during pregnancy upon adverse pregnancy outcomes: A meta-analysis. *Journal of Clinical Virology*. 2018;104:48-55.
8. Breuer J. Molecular Genetic Insights Into Varicella Zoster Virus (VZV), the vOka Vaccine Strain, and the Pathogenesis of Latency and Reactivation. *The Journal of Infectious Diseases*. 2018;218(Suppl 2):S75-S80.
9. Freer G, Pistello M. Varicella-zoster virus infection: natural history, clinical manifestations, immunity and current and future vaccination strategies. *New Microbiologica*. 2018;41(2):95-105.
10. Nagel M, Gilde D. Neurological Complications of VZV Reactivation. *Current Opinion Neurology*. 2014;27(3):356-360.
11. Depledge DP, Yamanishi K, Gomi Y, Gershon A, Breuer J. Deep Sequencing of Distinct Preparations of the Live Attenuated Varicella-Zoster Virus Vaccine Reveals a Conserved Core of Attenuating Single-Nucleotide Polymorphisms. *Journal of Virology*. 2016;90(19):8698-8704.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Validation and Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays-Second Edition. CLSI guideline MM17. Wayne, PA: CLSI. 2018.
13. CDC website: <https://www.cdc.gov/chickenpox/lab-testing/collecting-specimens.html> Collecting Specimens for Varicella Zoster Virus (VZV) Testing.
14. CLSI. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guidelines. CLSI document MM13-A. Wayne, PA: CLSI. 2005;25(31).

Definición de los símbolos

En esta sección se describen todos los símbolos utilizados en la descripción del etiquetado de los productos, en la información de uso o manipulación de los componentes, o en el envase de las unidades de venta.

Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Contiene material suficiente para <n> análisis
	Número de catálogo		Código de lote
	Fabricante		Fecha de caducidad
	Fecha de fabricación		Mantener protegido de la luz solar
	Marca CE	YYYY-MM-DD	Formato de fecha (Año-Mes-Día)
	Marca CE con número de identificación del organismo notificado	YYYY-MM	Formato de fecha (Año-Mes)
	Consultar las instrucciones de uso		Almacenar en posición vertical
	Precaución/Atención		Irritante
	Límite de temperatura		Fabricado en Luxemburgo

Información legal

FTD y todas las marcas asociadas son marcas comerciales de Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l. o de sus filiales. Todas las demás marcas comerciales y marcas pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2019-2021 Fast Track Diagnostics. Reservados todos los derechos.

Sede central de Siemens Healthineers

Siemens Healthcare GmbH
Henkestr. 127
91052 Erlangen
Germany
Phone: +49 9131 84-0
siemens-healthineers.com



Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l.
29, rue Henri Koch
L-4354 Esch-sur-Alzette
Phone: +352 281098-217



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: SIEMENS HEALTHCARE S.A rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 78 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.06.07 10:06:07 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.06.07 10:06:09 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001003-23-7

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

Expediente N° 1-0047-3110-001003-23-7

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por SIEMENS HEALTHCARE 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: 1) FTD Viral Meningitis; 2) FTD Vesicular rash

Marca comercial: N/A

Modelos:

N/A

Indicación/es de uso:

1) prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la detección y la diferenciación de ácidos nucleicos víricos específicos en líquido cefalorraquídeo (LCR) de origen humano como una ayuda para el

diagnóstico de infecciones causadas por virus del herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), virus de paperas (MuV), virus de la varicela zóster (VZV), enterovirus (EV) y parecovirus humano (HPeV).

2) prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la detección y la diferenciación de ácidos nucleicos de víricos específicos en muestras de hisopados vesiculares de origen humano como ayuda en el diagnóstico de infecciones causadas herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) y virus de la varicela zóster (VZV).

Forma de presentación: 1)

a) Envase para 32 reacciones compuesto por: 1 x 48µReactivo VM1 PP Mix;1 x 48µReactivo EPA PP Mix; 1 x 300 µReactivo VirMeng PC; 1 x 2000 µNegative Ctrl;1 x 128 µInternal Ctrl; 1 x 64 µMezcla Enzimática 25x RT-PCR Enz; 1 x 800 µTampón 2x RT-PCR Buff

b) Envase para 64 reacciones compuesto por: 2 x 48µ Reactivo VM1 PP Mix; 2 x 48µReactivo EPA PP Mix; 2 x 300 µReactivo VirMeng PC ;1 x 4000 µNegative Ctrl ; 2 x 128 µInternal Ctrl ; 2 x 64 µMezcla enzimática 25x RT-PCR Enz. ;2 x 800 µTampón 2x RT-PCR Buff

2)

a) Envase para 32 reacciones compuesto por: 1 x 48µde Reactivo Vesic PP Mix ;1 x 150µde Reactivo Vesic PC;1 x 2000 µde Negative Ctrl;1 x 128 µde Internal Ctrl ;1 x 32 µde Mezcla Enzimática 25x RT-PCR Enz. ;1 x 400 µ de Tampón 2x RT-PCR Buff

b) Envase para 64 reacciones compuesto por: 2 x 48µde Reactivo Vesic PP Mix ;2 x 150µde Reactivo Vesic PC;1 x 4000 µde Negative Ctrl;2 x 128 µde Internal Ctrl ;2 x 32 µde Mezcla Enzimática 25x RT-PCR Enz. ;2 x 400 µ de Tampón 2x RT-PCR Buff

Período de vida útil: 1) y 2) 24 meses a -30 a -10°C

Nombre del fabricante:

Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à.r.l.

Lugar de elaboración:

29, rue Henri Koch L-4354 Esch-sur-Alzette, LUXEMBURGO.

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 1074-869 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-001003-23-7

N° Identificadorio Trámite: 46205

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.07.05 22:25:56 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.07.05 22:25:56 -03:00