



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005445-22-8

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-005445-22-8 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

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

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 Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, de acuerdo con lo solicitado por BioSystems S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2023-09120848-APN-INPM ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 626-168 ", 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. Inscríbese 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: Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection

Marca comercial: Seegene

Modelos:

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, (Ref.: TB10173Y) para 50 reacciones.

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, (Ref.: TB10174X) para 100 reacciones.

Indicación/es de uso:

Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection es una prueba cualitativa in vitro para la detección única o múltiple de Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a los fármacos antituberculosos de primera línea (isoniazida y

rifampicina) y a los fármacos antituberculosos de segunda línea (fluoroquinolonas y fármacos inyectables) de muestras de esputo, cultivo o lavado bronquial de pacientes sintomáticos.

Forma de presentación: Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, (Ref.: TB10173Y) para 50 reacciones:

- MTBe TOM (1 x 250 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- MDRe TOM (1 x 250 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- XDRe TOM (1 x 250 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM1 (3 x 250 µL) ADN Polimerasa; UDG Uracil DNA Glicosilasa; Tampon conteniendo dNTPS.
- MTB/DRe PC (1 x 150 µL) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos.
- MTB/DRe IC (1 x 500 µL) Control interno exógeno (CI).
- MTB/DRe WTC (1 x 150 µL) Control de tipo salvaje (WTC): Mezcla de clones de MTB de tipo salvaje
- RNase-free Water (3 x 1,000 µL) Calidad ultrapura, grado PCR.
- Solución de extracción de ADN (1 x 10 mL) Reactivo para extracción de ADN bacteriano.

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, (Ref.: TB10174X) para 100 reacciones:

- MTBe TOM (1 x 500 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- MDRe TOM (1 x 500 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- XDRe TOM (1 x 500 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM1 (3 x 500 µL) ADN Polimerasa; UDG Uracil DNA Glicosilasa; Tampon conteniendo dNTPS.
- MTB/DRe PC (1 x 300 µL) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos.
- MTB/DRe IC (1 x 1000 µL) Control interno exógeno (CI).
- MTB/DRe WTC (1 x 300 µL) Control de tipo salvaje (WTC): Mezcla de clones de MTB de tipo salvaje
- RNase-free Water (3 x 1,000 µL) Calidad ultrapura, grado PCR.
- Solución de extracción de ADN (2 x 10 mL) Reactivo para extracción de ADN bacteriano.

Período de vida útil y condición de conservación: Este producto tiene estabilidad para usarse durante 12 meses, conservado a (-20 °C).

Nombre del fabricante:

Seegene Inc.

Lugar de elaboración:

Seegene Inc. / Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul 05548, República de Corea.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-005445-22-8

N° Identificadorio Trámite: 41287

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2023.06.01 13:03:19 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.06.01 13:03:28 -03:00

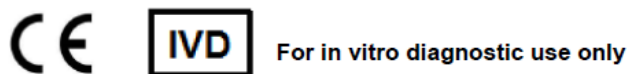
Allplex™ MTB/MDR /XDRe Detection

(Cat. No. TB10173Y)

Sistema de PCR multiplex en tiempo real para la detección de Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea (isoniazida y rifampicina) y fármacos antituberculosos de segunda línea (fluoroquinolonas y fármacos inyectables) basado en análisis de temperatura de fusión.

Para usar con (Cat. No. TB10174X, TB10173Y):

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)



Seegene Inc.,

Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul, Republic of Korea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Germany

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17589

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

TABLA DE CONTENIDOS

AVISOS	3
USO PREVISTO	4
PRINCIPIOS Y RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO	5
INFORMACIÓN DEL CONTEXTO	7
REACTIVOS	10
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN	11
MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS	11
PROTOCOL	12
CONFIGURACIÓN DEL INSTRUMENTO DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	17
RESULTADOS	37
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	44
DESEMPEÑO	46
REFERENCIAS	61
SÍMBOLOS	62
INFORMACIÓN SOBRE PEDIDOS	63

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

AVISOS

- Sólo para uso diagnóstico in vitro.
- La confiabilidad de los resultados depende de una adecuada recolección de muestras, almacenamiento, transporte y procedimiento de procesamiento.
- **Esta prueba ha sido validada para los siguientes tipos de muestras: esputo, cultivo y lavado bronquial. Esta prueba no ha sido validada para ningún otro tipo de muestras.**
- **Almacene las muestras de ADN a ≤ -20 °C hasta su uso y manténgalas en hielo durante el uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede disminuir si las muestras se congelan / descongelan repetidamente o se almacenan durante un período de tiempo más largo.
- **El exclusivo tubo de PCR [EU 0.1 mL, tira de 8 tubos de pared delgada (Cat. No. B77009) y EU 8-Óptica acoplable única (Cat. No. B79501); BIOplásticos] deben utilizarse para las reacciones de PCR de este producto.**
- **La reacción de control de tipo salvaje siempre debe realizarse en cada ejecución de prueba.**
- El flujo de trabajo en el laboratorio debe proceder de manera unidireccional.
- Use guantes desechables y cámbielos antes de ingresar a diferentes áreas. Cambie los guantes inmediatamente si están contaminados o trátelos con reactivo de descontaminación de ADN.
- Los suministros y equipos deben estar dedicados a las áreas de trabajo y no deben trasladarse de un área a otra.
- No pipetear por la boca.
- No coma, beba ni fume en áreas de trabajo de laboratorio. Use guantes desechables sin polvo, batas de laboratorio y protecciones para los ojos al manipular muestras y reactivos. Lávese bien las manos después de manipular muestras y reactivos de prueba.
- Evite la contaminación de los reactivos al retirar alícuotas de los tubos de reactivos. Se recomienda el uso de Tips de pipeta desechables, esterilizadas.
- No agrupe reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
- No utilice el producto después de su fecha de caducidad.
- No reutilice todos los artículos desechables.
- Use tubos con tapón de rosca y evite cualquier posible salpicadura o contaminación cruzada de las muestras durante la preparación.
- Tenga cuidado de no contaminar los reactivos con ácidos nucleicos extraídos, productos de PCR y control positivo. Para evitar la contaminación de los reactivos, se recomienda el uso de filtros-tips.
- Use áreas de trabajo separadas y segregadas para cada trabajo.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17583

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Para evitar la contaminación de las áreas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos o tiras de reacción de PCR solo en las áreas de trabajo designadas después de la amplificación.
- Almacene materiales positivos separados de los reactivos del kit.
- Los procedimientos de seguridad de laboratorio (consulte Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos y documentos CLSI) que deben tomarse al manipular muestras. Limpie y desinfecte a fondo todas las superficies de trabajo con hipoclorito de sodio al 0.5% (en agua desionizada o destilada). Los componentes del producto (residuos del producto, embalaje) pueden considerarse residuos de laboratorio. Deseche los reactivos y desechos no utilizados de acuerdo con las regulaciones federales, estatales y locales aplicables.
- La fecha de caducidad es de 12 meses a partir de la fecha de fabricación a ≤ -20 °C. Consulte la etiqueta para la fecha de caducidad final.
- La marca del "CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD" se cambia a "CFX96™ Dx System". Como no hay cambios de hardware en los sistemas, se espera obtener los mismos resultados de ambos sistemas.
- "CFX Manager™ Dx Software v3.1" es una versión de actualización de "CFX Manager™ Software-IVD v1.6". El software actualizado incluye mejoras en el menú "Ejecutar". Estas mejoras no afectan los resultados del análisis de datos; por lo tanto, los resultados serán los mismo.
- Este kit está destinado a ayudar en el diagnóstico diferencial de infecciones por patógenos diana; Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a los fármacos antituberculosos de primera línea (isoniazida y rifampicina) y a los fármacos antituberculosos de segunda línea (fluoroquinolonas y fármacos inyectables).

USO PREVISTO

Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection es una prueba cualitativa in vitro para la detección única o múltiple de Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a los fármacos antituberculosos de primera línea (isoniazida y rifampicina) y a los fármacos antituberculosos de segunda línea (fluoroquinolonas y fármacos inyectables) de muestras de esputo, cultivo o lavado bronquial de pacientes sintomáticos. Cubre 7 mutaciones que causan resistencia a la isoniazida en el gen katG y la región promotora inhA, 18 mutaciones que causan resistencia a la rifampicina en el gen rpoB, 7 mutaciones que causan resistencia a las fluoroquinolonas en el gen gyrA y 6 mutaciones que causan resistencia a fármacos inyectables en el gen rrs y el promotor eis región.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1. Principios

Seegene posee dos tecnologías sobresalientes relacionadas con la PCR: la tecnología de oligonucleótidos de cebado dual (DPO™) y la tecnología TOCE™. DPO™ es una herramienta fundamental para bloquear la extensión de plantillas cebadas no específicamente, lo que permite el diseño y desarrollo de ensayos con una especificidad excepcionalmente alta. La fuerza y la utilidad de la tecnología DPO™ se pueden incorporar con éxito en varios sistemas de diagnóstico molecular, como ensayos moleculares multiplexados y ensayos para la detección de mutaciones puntuales. TOCE™ es una tecnología novedosa para lectura en tiempo real basada en análisis de temperatura de fusión. Hasta ahora, el análisis de la temperatura de fusión se ha visto limitado por varias limitaciones inherentes, a saber, el diseño restringido de la sonda, la incapacidad de multiplexar de manera extensa y eficiente y la alta sensibilidad de las temperaturas de fusión debido a la variación de secuencia en el sitio de la sonda. La tecnología TOCE™ supera estas limitaciones proporcionando capacidades de multiplexación mejoradas, mejorando la flexibilidad del diseño de la sonda, proporcionando una lectura que es independiente de la variación de la secuencia objetivo y la compatibilidad entre plataformas. La combinación de las tecnologías DPO™ y TOCE™ permite la detección simultánea en tiempo real de múltiples mutaciones puntuales con alta especificidad.

Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection es un ensayo de PCR multiplex en tiempo real que permite la amplificación y detección simultáneas de secuencias objetivo de Mycobacterium tuberculosis (MTB), 7 mutaciones que causan resistencia a isoniazida (INH) [katG S315I (ATC), S315N (AAC), S315T (ACC), S315T (ACA), promotor inhA -15 (T), -8 (A), -8 (C)], 18 mutaciones que causan resistencia a la rifampicina (RIF) [rpoB L511P (CCG), Q513K (AAA), Q513L (CTA),

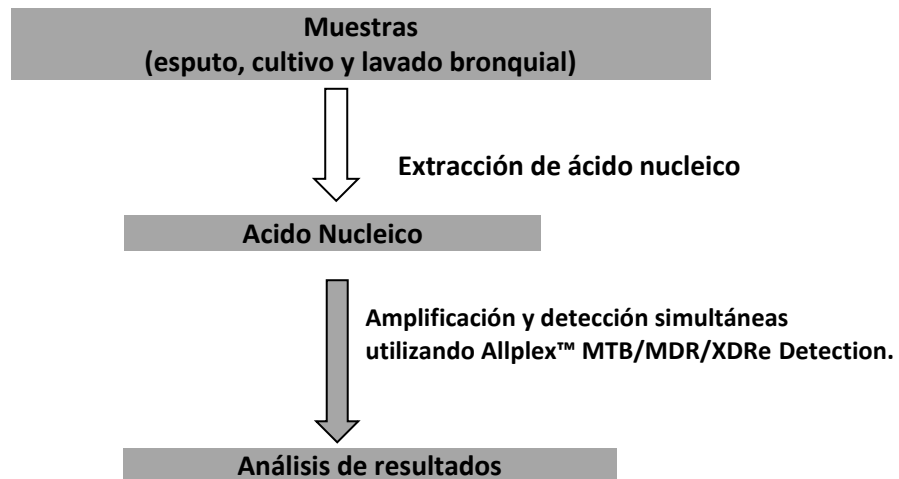
Q513P (CCA), delección de 3 aminoácidos en 513 ~ 516, D516V (GTC), D516Y (TAC), S522L (TTG), S522Q (CAG), H526C (TGC), H526D (GAC), H526L (CTC), H526N (AAC), H526R (CGC), H526Y (TAC), S531L (TTG), S531W (TGG), L533P (CCG)], 7 resistencia a fluoroquinolonas (FQ) que causa mutaciones [gyrA A90V (GTG), S91P (CCG), D94A (GCC), D94G (GGC), D94H (CAC), D94N (AAC), D94Y (TAC)], 6 mutaciones que causan resistencia a fármacos inyectables [rrs 1401 (G), 1402 (T), 1484 (T), el promotor eis -37 (T), -14 (T), -10 (A)] y Control interno (IC).

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection incluye control interno. El control interno se agrega para monitorear las muestras procesadas que contienen sustancias que pueden interferir con la amplificación por PCR.

La especificidad de los oligonucleótidos dirigidos a mutaciones en Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection se puede confirmar mediante el control de tipo salvaje (WTC). El control de tipo salvaje está diseñado para exhibir el mismo patrón de resultados que el de la muestra de M. tuberculosis susceptible a fármacos. La reacción de control de tipo salvaje siempre debe realizarse para cada ejecución de prueba, y el resultado de resistencia a los medicamentos de muestras desconocidas se analiza en función del resultado del control de tipo salvaje.

El sistema uracil-ADN glicosilasa (UDG) -dUTP se emplea en Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection. El sistema UDG-dUTP se usa comúnmente cuando se realiza PCR para eliminar el arrastre de amplicón, ya que la UDG escinde los residuos de uracilo del ADN al escindir el enlace N-glicosílico.

2. Descripción del procedimiento



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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1. Tuberculosis

La tuberculosis es una enfermedad bacteriana infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis* y se sabe que se propaga por el aire. Cuando las personas infectadas tosen, escupen o hablan, los organismos de *M. tuberculosis* se dispersan en el aire. Solo una pequeña cantidad de *M. tuberculosis* es suficiente para causar una infección cuando se inhala. Sin embargo, no todas las personas infectadas con *M. tuberculosis* se enfermarán; el sistema inmunológico mata o protege a los gérmenes donde pueden permanecer inactivos durante años.

La incapacidad del sistema inmunológico para controlar la infección por *M. tuberculosis* conduce a una enfermedad activa.

La tuberculosis y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) forman una combinación letal. El SIDA debilita el sistema inmunológico, y una persona que es positiva al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) e infectada con *M. tuberculosis* tiene muchas más probabilidades de enfermarse de tuberculosis que alguien que es VIH negativo e infectado con *M. tuberculosis*.

2. Tuberculosis farmacorresistente

Cuando se identifica a una persona con tuberculosis infecciosa, se debe iniciar un tratamiento con medicamentos antituberculosos. Los medicamentos contra la tuberculosis más comunes (medicamentos de primera línea) son isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol. En todos los países encuestados se han documentado cepas resistentes a un solo fármaco; es más, han surgido cepas de *M. tuberculosis* resistentes a todos los principales fármacos antituberculosos. Una forma particularmente peligrosa de tuberculosis farmacorresistente es la tuberculosis multirresistente (MDR-TB), que se define como la enfermedad causada por *M. tuberculosis* resistente a al menos dos de los fármacos antituberculosos más eficaces y comúnmente utilizados, la isoniazida y Rifampicina. La MDR-TB está presente en prácticamente todos los países encuestados por la Organización Mundial de la Salud (OMS). La tuberculosis extensamente resistente a medicamentos (XDR-TB), un tipo relativamente raro de MDR-TB, es resistente a isoniazida y rifampicina, además de resistente a cualquier fluoroquinolona y al menos a uno de los tres medicamentos inyectables de segunda línea (amikacina, kanamicina y capreomicina). En julio de 2010, 58 países y territorios habían notificado al menos un caso de XDR-TB.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Diagnóstico de tuberculosis y tuberculosis farmacorresistente

El diagnóstico rápido y preciso de los pacientes sintomáticos es la piedra angular de las estrategias globales para el control de la tuberculosis. Actualmente, la tuberculosis activa se diagnostica mediante una evaluación total de los síntomas, los signos clínicos y los resultados de las pruebas. Los métodos de prueba de diagnóstico para la tuberculosis incluyen la radiografía de tórax (rayos X), microscopía (tinción de bacilos ácido-resistentes (AFB)), cultivo y diagnóstico molecular. Junto con el cultivo como estándar de oro, los métodos de diagnóstico molecular basados en PCR se utilizan ampliamente para el diagnóstico precoz de la tuberculosis.

La detección de la farmacorresistencia antes del inicio de una quimioterapia inadecuada rescata la morbilidad, la mortalidad, los costos económicos y el tratamiento innecesario con medicamentos ineficaces. Los métodos de rutina para las pruebas de susceptibilidad a los medicamentos (DST), estándar de oro para el diagnóstico de la tuberculosis farmacorresistente, son lentos y rara vez están disponibles en entornos con recursos limitados. El hecho de que a menudo se necesiten varias semanas para producir un resultado retrasa la institución de un tratamiento eficaz, por lo que aumenta el riesgo de transmisión de M. tuberculosis farmacorresistente a los contactos. Además, los pacientes pueden recibir una terapia inapropiada que amplifica la resistencia y compromete aún más la posibilidad de un resultado exitoso del tratamiento. Por lo tanto, un diagnóstico preciso, simple y rápido es necesario para un cribado eficaz y proporciona una asistencia clínica útil para el tratamiento adecuado de la lucha mundial contra la tuberculosis.

Los avances recientes en la DST fenotípica incluyen el uso de indicadores de crecimiento de micobacterias y ensayos basados en fagos. Aunque estos métodos pueden informar la resistencia fenotípica en 2 a 10 días, el cultivo de M. tuberculosis viable representa un riesgo para la salud del personal de laboratorio y, por lo tanto, requiere altos niveles de bioseguridad. Para superar estas limitaciones y mejorar la velocidad de detección de la resistencia a los fármacos, se han desarrollado numerosos métodos basados en PCR.

Sin embargo, la gran cantidad de polimorfismos de un solo nucleótido no sinónimos (nsSNP) que confieren resistencia sigue siendo un desafío importante para el desarrollo exitoso de métodos de prueba genotípicos. Además, muchos de estos métodos basados en PCR se ven obstaculizados por la necesidad de procesamiento posterior para permitir la detección de nsSNP dentro del dominio amplificado por PCR (p. Ej., Hibridación con oligonucleótidos inmovilizados, micromatrices, hibridación dot-blot, cromatografía líquida de alto rendimiento desnaturizante y secuenciación de ADN).

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Las mutaciones diana de Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection se resumen en la siguiente tabla.

Mutaciones objetivo de Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection					
Resistencia a droga	Gen relacionado	Mutaciones objetivo			
Resistencia a la isoniazida (INH-R)	katG	S315I (AGC→ATC)	S315N (AGC→AAC)	S315T (AGC→ACC)	S315T (AGC→ACA)
	Promotor inhA	-15 (C→T)	-8 (T→A)	-8 (T→C)	
Resistencia a la rifampicina ¹ (RIF-R)	rpoB	L511P (CTG→CCG)	Q513K (CAA→AAA)	Q513L (CAA→CTA)	Q513P (CAA→CCA)
		3 a.a. supresión en 513 ~ 516	D516V (GAC→GTC)	D516Y (GAC→TAC)	S522L (TCG→TTG)
		S522Q (TCG→CAG)	H526C (CAC→TGC)	H526D (CAC→GAC)	H526L (CAC→CTC)
		H526N (CAC→AAC)	H526R (CAC→CGC)	H526Y (CAC→TAC)	S531L (TCG→TTG)
		S531W (TCG→TGG)	L533P (CTG→CCG)		
Resistencia a fluoroquinolonas (FQ-R)	gyrA	A90V (GCG→GTG)	S91P (TCG→CCG)	D94A (GAC→GCC)	D94G (GAC→GGC)
		D94H (GAC→CAC)	D94N (GAC→AAC)	D94Y (GAC→TAC)	
Resistencia a fármacos inyectables (Inj. Droga-R)	rrs	1401 (A→G)	1402 (C→T)	1484 (G→T)	
	Promotor eis	-37 (G→T)	-14 (C→T)	-10 (G→A)	

¹ También se detectan nueve mutaciones adicionales con la misma mutación en la misma base (subrayadas): Q513N (CAA→AAT), D516F (GAC→TTC), D516V (GAC→GTG), H526F (CAC→TTC), H526G (CAC→GGC), H526L (CAC→CTG), H526L (CAC→CTT), H526S (CAC→AGC), and H526T (CAC→ACC).


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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 50 reacciones.

Información de pedido (Cat. No. TB10173Y)

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	MTBe TOM	250 µL	Mezcla de oligo TOCE (TOM): - Reactivo de amplificación y detección
PRIMER	MDRe TOM	250 µL	Mezcla de oligo TOCE (TOM): - Reactivo de amplificación y detección
PRIMER	XDRe TOM	250 µL	Mezcla de oligo TOCE (TOM): - Reactivo de amplificación y detección
PREMIX	EM1	250 µL X 3	- ADN polimerasa - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTP
CONTROL +	MTB/DRe PC	150 µL	Control positivo (PC): - Mezcla de clones de patógenos e IC
CONTROL IC	MTB/DRe IC	500 µL	Control interno exógeno (CI) para Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection
CONTROL W	MTB/DRe WTC	150 µL	Control de tipo salvaje (WTC): - Mezcla de clones de MTB de tipo salvaje objetivos y clones de IC
WATER	Agua libre de ARNasa	1000 µL X 3	Calidad ultrapura, grado PCR
DNA ES	Solución de extracción de ADN	10 mL	Reactivo para extracción de ADN bacteriano
	Manual de usuario		

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes del Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection deben almacenarse a $\leq -20^{\circ}$ C. Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El rendimiento de los componentes del kit no se ve afectado por hasta 5 congelaciones/descongelaciones. Si los reactivos deben usarse solo de manera intermitente, deben almacenarse en alícuotas.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

- NALC-NaOH (0,5% NALC, 2% NaOH y 1,47% citrato trisódico) o 4% NaOH (1 N NaOH)
- Solución 1X PBS
- Bucle o aguja de plástico desechable
- Guantes desechables sin polvo (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubos de microcentrífuga de 1,5 ml
- Máquina de hielo
- Centrífuga de escritorio
- Mezclador Vortex
- Bloque de calor
- Banco limpio
- CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- EU 0.1 mL, Thin-wall 8-tube Strip, white (Cat. No. B77009; BIOplastics)
- EU 8-single attachable optical wide indented cap-strip (Cat. No. B79501; BIOplastics)

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1. Recolección, almacenamiento y transporte de muestras.

Nota: Todas las muestras deben tratarse como material potencialmente infeccioso. Solo se permiten aquellos materiales de muestra, los cuales son recolectados, almacenados y transportados atendiendo estrictamente a las siguientes reglas e instrucciones.

Nota: Para garantizar una alta calidad de la muestra, las muestras deben transportarse lo más rápido posible y a las temperaturas indicadas.

A. Colección de muestras**Espujo**

- Dar instrucciones claras a los pacientes al recolectar muestras de espujo. Los pacientes deben recolectar muestras al aire libre o lejos de otras personas. Los pacientes no deben recolectar muestras en espacios reducidos como inodoros.
- Enjuague la boca con agua antes de recolectar el espujo. Los pacientes deben toser profundamente para expectorar el espujo directamente en el recipiente.
- Una muestra de espujo debe tener un volumen de 3 a 5 ml.

Cultivo sólido (Ogawa)

- Las muestras pueden analizarse tan pronto como el crecimiento sea visible y durante los siguientes 60 días de incubación.
- La colonia se puede recolectar con un bucle o aguja de plástico desechable. Evite recolectar cualquiera de los medios Ogawa junto con la celda.

Cultivo líquido (MGIT)

- Los tubos indicadores del crecimiento de micobacterias (MGIT) se examinan a diario con una lámpara UV para detectar una fluorescencia naranja brillante en la parte inferior del tubo reflejada en el menisco. Con la señal positiva de fluorescencia, pipetea 0,5 mL de muestra del fondo del tubo.

Lavado bronquial

- El médico debe recoger asépticamente el lavado bronquial en un recipiente estéril mediante técnicas de aspiración o procedimientos quirúrgicos.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

Muestra	Almacenamiento y transporte		Nota
	Temp.	Duración*	
Esputo	2~8°C	5 días	- El rendimiento puede verse afectado por el almacenamiento prolongado de muestras. - Las muestras también deben cumplir con las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno.
Cultivo sólido (Ogawa)			
Cultivo líquido (MGIT)			
Lavado bronquial			

* Duración: El período de tiempo desde la recolección de la muestra hasta la prueba final (incluye el transporte y el almacenamiento de las muestras antes de la prueba).

2. Pretratamiento de muestras

Esputo

1) Para extracción manual de ácidos nucleicos

- Agregue el mismo volumen de NALC-NaOH (0.5% NALC, 2% NaOH y 1.47% citrato trisódico) a la muestra en el recipiente de esputo y agite en vórtex durante 1 minuto.

Nota: Se puede utilizar NaOH al 4% (NaOH 1 N) en lugar de NALC-NaOH.

- Incube durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Transferir 1,5 mL a un nuevo tubo estéril y centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Deseche el sobrenadante, agregue 1 mL de solución de PBS 1X y mezcle bien.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos y desechar el sobrenadante con una pipeta.
- Agregue 1 mL de solución 1X PBS y mezcle bien.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos y desechar el sobrenadante con una pipeta.

Lavado bronquial

- Sin añadir NALC-NaOH, centrifugue 1,5 ml de muestra a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Deseche el sobrenadante, agregue 1 mL de solución de PBS 1X y mezcle bien.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos y desechar el sobrenadante con una pipeta.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Extracción de ácidos nucleicos

A. Control interno

Nota: El IC, incluido en el kit, permite al usuario no solo confirmar el procedimiento de extracción de ácido nucleico, sino también identificar cualquier inhibición de la PCR.

- Se deben agregar 10 µL de MTB / DRe IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico.
- El CI se puede agregar directamente a la solución de extracción de ADN o a la mezcla de la muestra y la solución de extracción de ADN.

B. Kits de extracción manual de ácidos nucleicos

Nota: La solución de extracción de ADN se incluye en el Allplex™ MTB/MDR/XDR Detection kit.

Todas las muestras excepto las muestras de cultivo

- (Opcional) Agregue 1 mL de agua esterilizada al sedimento preparado, centrifugue a 15,000 x g (13,000 rpm) durante 5 minutos y deseche el sobrenadante con una pipeta.
- Añada 100 µL de solución de extracción de ADN al sedimento y agite en el vórtex durante 30 segundos.
- Bloquee la tapa del tubo con un cierre de tapa y hierva a 100 ° C durante 20 minutos en el bloque de calor.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Utilice 5 µL del sobrenadante como plantilla de PCR.

Cultivo sólido (Ogawa)

- Suspenda una colonia en 200 µL de solución de extracción de ADN en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml.
- Agite en el vórtex durante 30 segundos.
- Cierre la tapa del tubo con un cierre de tapa y hierva a 100 ° C durante 20 minutos en un bloque de calor.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Utilice 5 µL del sobrenadante como plantilla de PCR.

Cultivo líquido (MGIT)

- Transferir 0.5 mL del cultivo en la parte inferior a un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Deseche el sobrenadante y agregue 200 µL de solución de extracción de ADN al sedimento.
- Agite en el vórtex durante 30 segundos.
- Cierre la tapa del tubo con un cierre de tapa y hierva a 100 ° C durante 20 minutos en un bloque de calor.

- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Utilice 5 µL del sobrenadante como plantilla de PCR.
-

4. Preparación para PCR en tiempo real

Nota: Deben utilizarse tubos y tapas correctos (consulte MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS).

Nota: Se deben usar puntas con filtro resistentes a aerosoles y guantes ajustados al preparar reacciones de PCR.

Tenga mucho cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: descongele completamente todos los reactivos en hielo.

Nota: centrifugue brevemente los tubos de reactivo para eliminar las gotas del interior de la tapa.

Nota: Cada muestra se analizará simultáneamente en tres reacciones separadas (MTBe, MDRe y XDRe).

A. Preparar el Mastermix de la PCR.

5 µL MTBe TOM or MDRe TOM or XDRe TOM

5 µL EM1

5 µL RNase-free Water

15 µL Volumen total de PCR Mastermix

Nota: Calcule la cantidad total de cada reactivo necesaria en función del número de reacciones, incluidas las muestras y los controles.

B. Mezclar con vórtex rápido y centrifugar brevemente.

C. Coloque alícuotas de 15 µL de la mezcla maestra de PCR en tubos de PCR.

D. Añada 5 µL de los ácidos nucleicos de cada muestra en el tubo que contiene una alícuota de la mezcla maestra de PCR.

15 µL PCR Mastermix

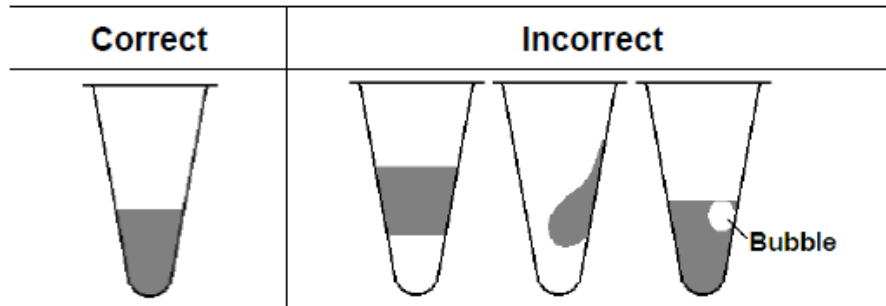
5 µL Ácidos nucleicos de la muestra

20 µL Volumen Total de Reacción

E. Cierre la tapa y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

F. Verifique que el líquido que contiene todos los componentes de PCR esté en el fondo de cada tubo de PCR. Si no, centrifugue nuevamente a rpm más altas por más tiempo.

Nota: Se recomienda centrifugar los tubos de PCR antes de la PCR para eliminar las burbujas de aire y recoger todos los líquidos residuales en el fondo de los tubos.



Nota: Utilice una nueva punta de pipeta estéril para cada muestra.

Nota: Para el control negativo (NC), use 5 μ L de agua libre de RNasa en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el control positivo (PC), use 5 μ L de MTB / DRe PC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el control de tipo salvaje (WTC), use 5 μ L de MTB / DRe WTC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: La reacción de control de tipo salvaje siempre debe realizarse para cada ejecución de prueba, y el resultado de resistencia a los medicamentos de muestras desconocidas se analiza en función del resultado del control de tipo salvaje.

Nota: Tenga cuidado de no contaminar de forma cruzada la mezcla maestra de PCR y las muestras con control positivo o control de tipo salvaje.

Nota: No etiquete el tubo de reacción en su tapa. La fluorescencia se detecta en la parte superior de cada tubo de reacción.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONFIGURACIÓN DEL INSTRUMENTO DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

1. CFX96TM Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)

1.1. Configuración del instrumento Real-time PCR

Nota: Para el análisis de datos simple en Seegene Viewer, instale cada tubo de reacción MTBe, MDRe, XDRe en la posición especificada en el bloque de la siguiente manera.

- **MTBe: columna 1 ~ 4**

- **MDRe: columna 5 ~ 8**

- **XDRe: columna 9 ~ 12**

Nota: La configuración del experimento del sistema de detección de PCR en tiempo real CFX96TM (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos: configuración del protocolo, configuración de la placa e inicio de ejecución.

A. Configuración de protocolo

1) En el menú principal, seleccione Archivo Nuevo Protocolo para abrir el Editor de protocolos.



Fig. 1. Configuración del protocolo. Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para la ejecución

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) En **Protocol Editor**, defina el perfil térmico de la siguiente manera:

Step	No. of cycles	Temperature	Duration
1	1	95°C	15 min
2		95°C	30 sec
3*	50	60°C	1 min
4		72°C	30 sec
5		GOTO Step 2, 49 more times	
6	1	55°C	30 sec
7*	1	Melting curve 55°C ~ 85°C (5 sec/0.5°C)	

* **Lectura de placa en los pasos 3 y 7.** Se detecta fluorescencia a 60 ° C y curva de fusión.

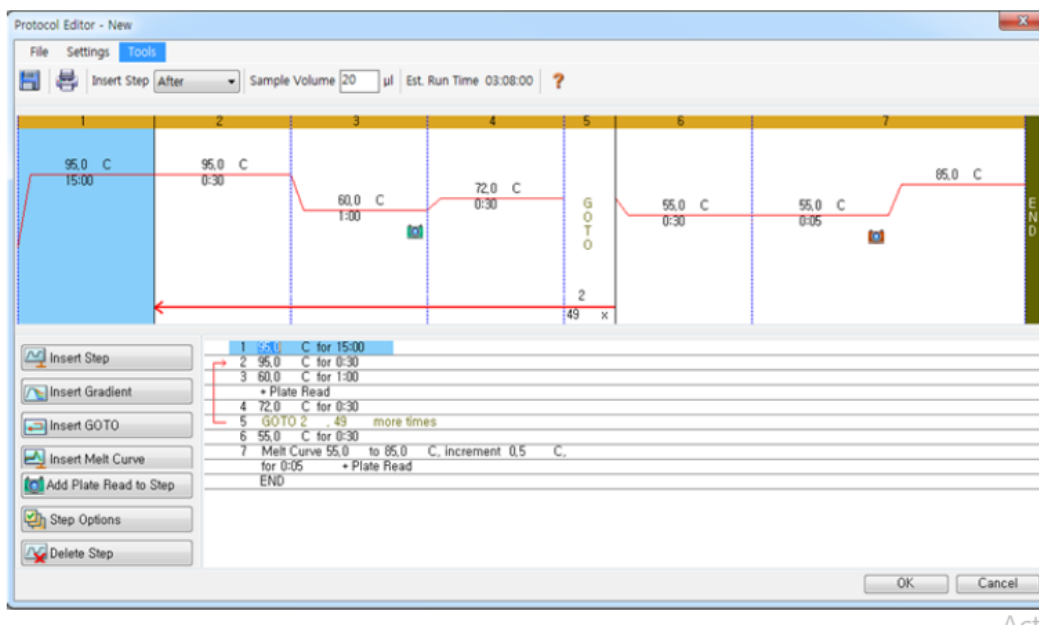


Fig. 2. **Protocol Editor**

3) Haga clic en la casilla junto a **Sample Volume** para ingresar directamente 20 µL.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Haga clic en **OK** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Experiment Setup**.

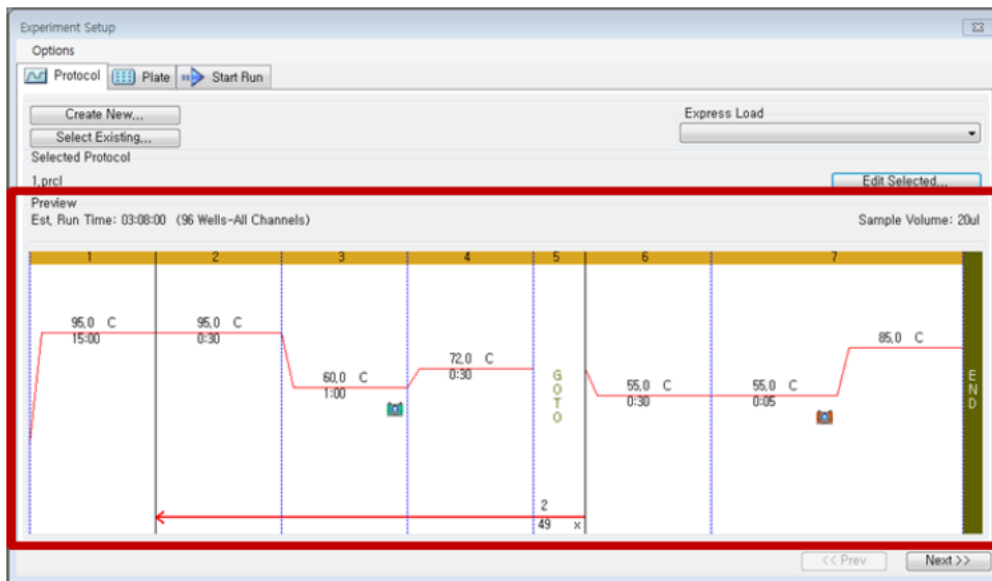


Fig. 3. Experiment Setup: Protocol

B. Configuración de la placa

1) En la pestaña **Plate** en **Experiment Setup**, haga clic en **Create New** para abrir la ventana del **Plate Editor**.

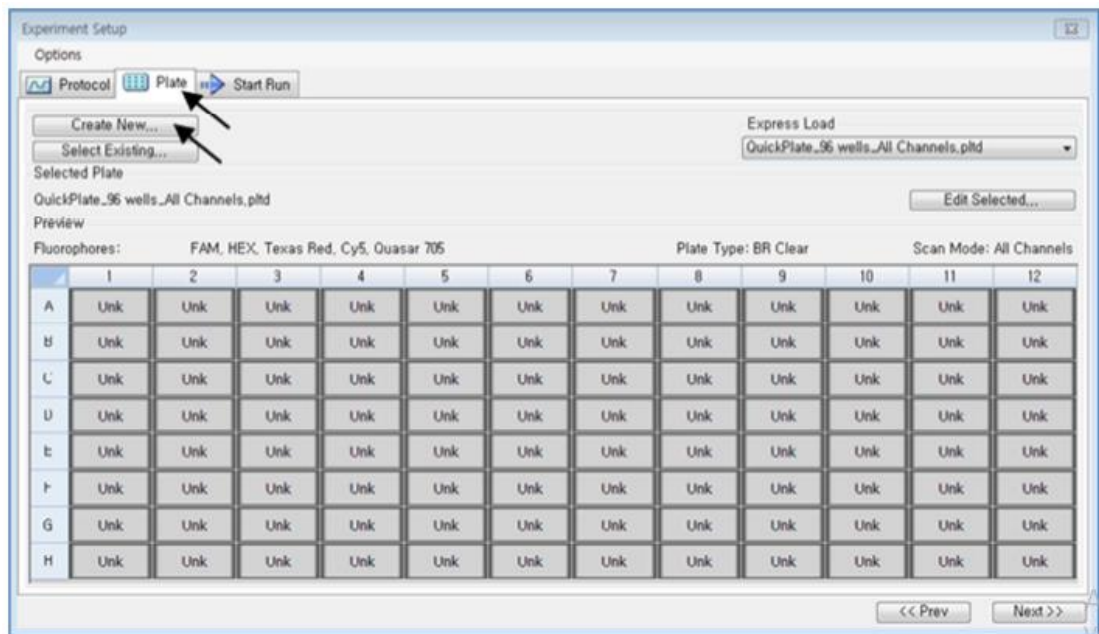


Fig. 4. Editor de placas. Crea un plato nuevo

2) Haga clic en **Select Fluorophores** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) que se utilizarán y haga clic en **OK**.

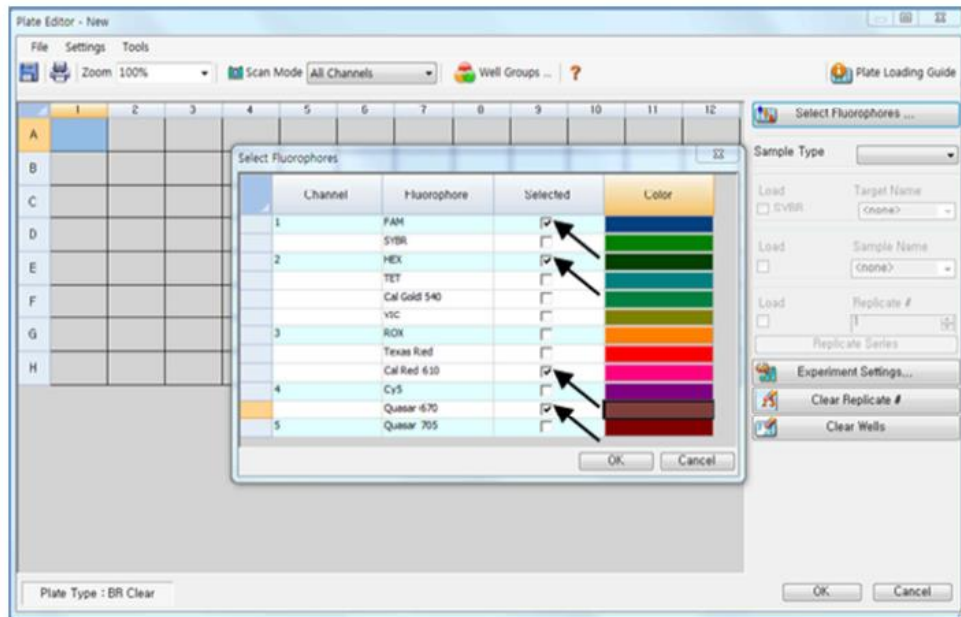


Fig. 5. Seleccione fluoróforos (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable Tipo de muestra.

- **Desconocido:** Muestras clínicas y controles de tipo salvaje
- **Negative Control**
- **Positive Control**

4) Haga clic en las casillas de verificación apropiadas (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluoróforos que se detectarán en los pocillos seleccionados.

5) Escriba **Sample Name** y presione la tecla Intro.

Nota: En los casos de control de tipo salvaje, se debe escribir el nombre correcto de la siguiente manera.

- WTcCe para la reacción MTBe
- MWTCe para reacción MDRe
- XWTcCe para reacción XDRe

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- 6) En **Settings** del **Plate Editor** del menú principal, elija **Plate Size (96 wells)** y **Plate Type (BR White)**.

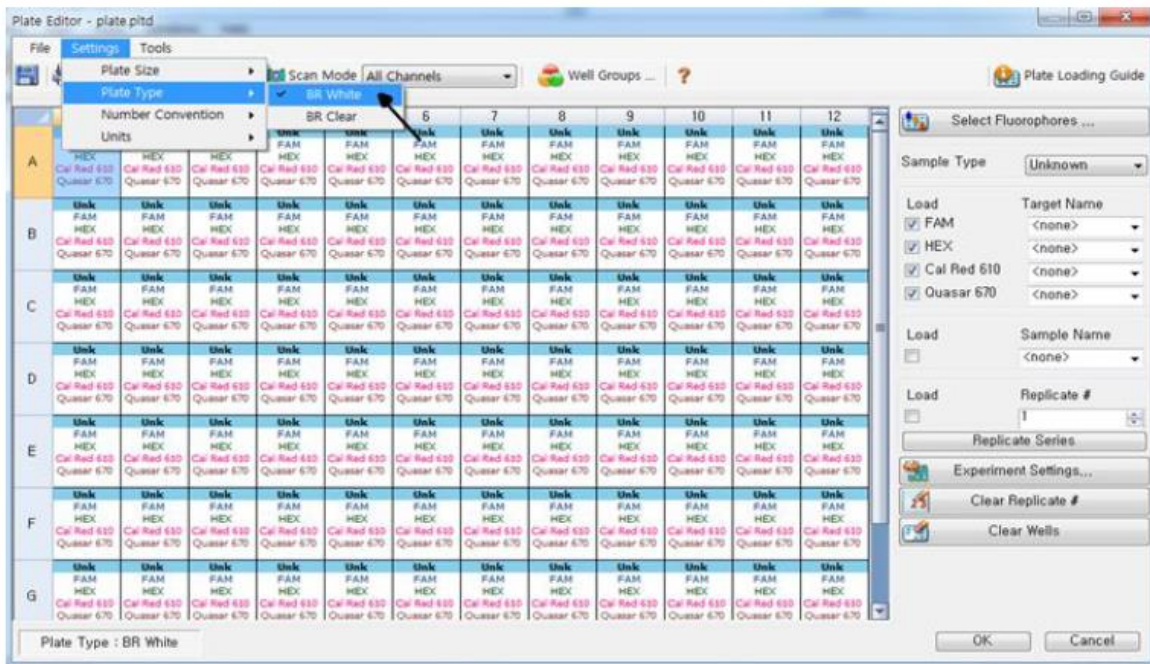


Fig. 6. Plate Setup

- 7) Haga clic en **OK** para guardar la nueva placa.
- 8) Volverá a la ventana **Experiment Setup**.

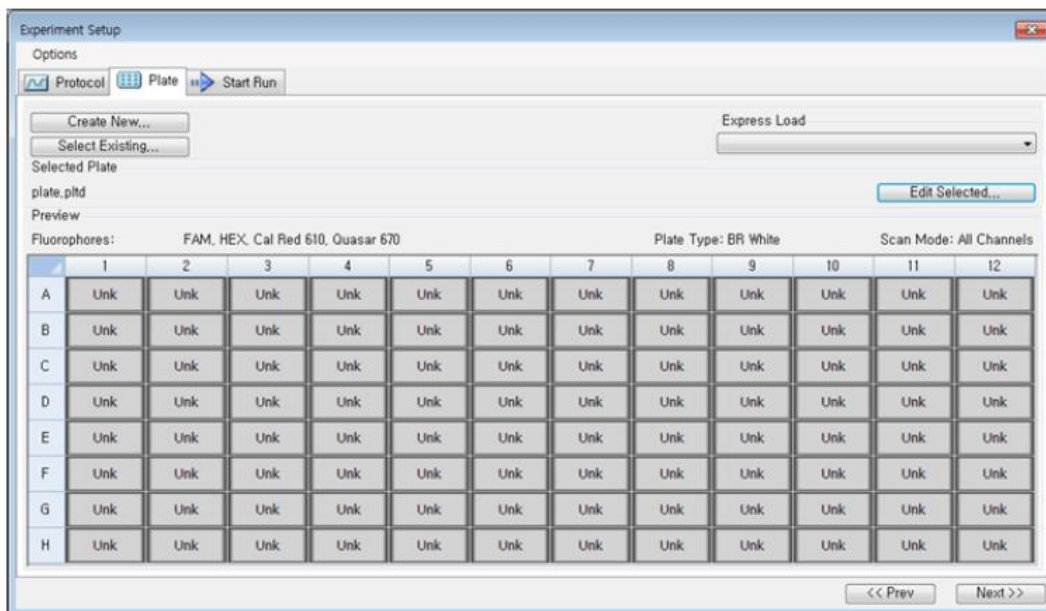


Fig. 7. Experiment Setup: Plate

- 9) Haga clic en **Next** para comenzar a ejecutar.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Comenzar a correr

1) En la pestaña **Start Run** en **Experiment Setup**, haga clic en **Close Lid** para cerrar la tapa del instrumento.

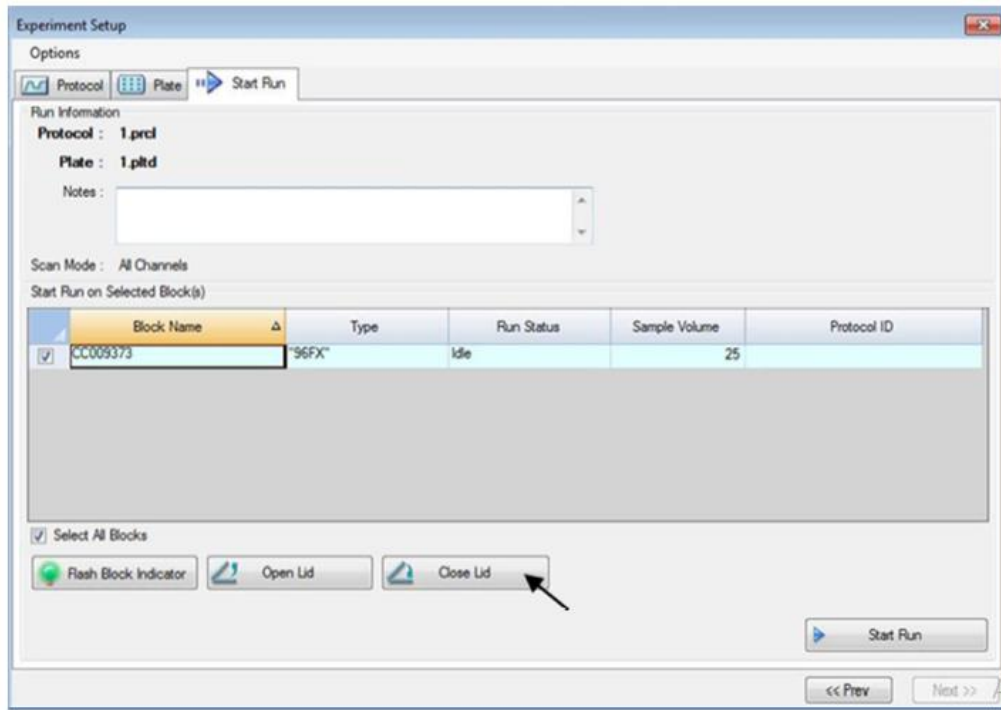


Fig. 8. Close Lid

2) Haga clic en **Start Run**.

3) Almacene el archivo de ejecución en Mis documentos o en una carpeta designada. Ingrese el nombre del archivo, haga clic en **SAVE** y comenzará la ejecución.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1.2. Análisis de los datos

A. Crear carpetas para exportar datos

- 1) Para guardar datos para todos los pasos de detección de curva de amplificación del archivo de resultados, cree una carpeta.
- 2) El nombre de la carpeta puede ser el deseado por el usuario (para la función "Seegene Export", las carpetas "QuantStep3" y "MeltStep7" se crean automáticamente para guardar los datos de cada curva de amplificación en la carpeta creada por el usuario).

B. Preconfiguraciones para el análisis de datos en CFX Manager™

- 1) Después de la prueba, haga clic en la pestaña Cuantificación para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

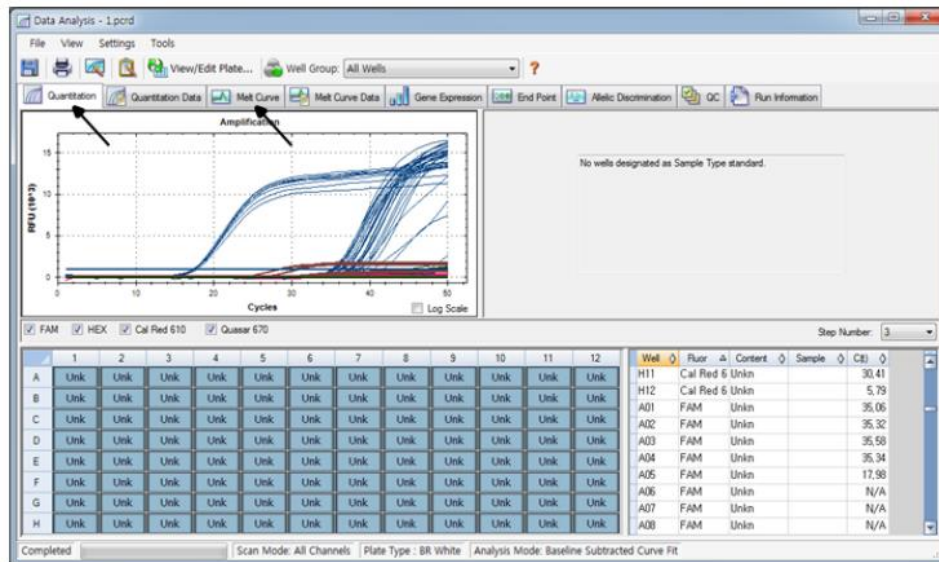


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **Seegene Export** en el menú de **herramientas**.

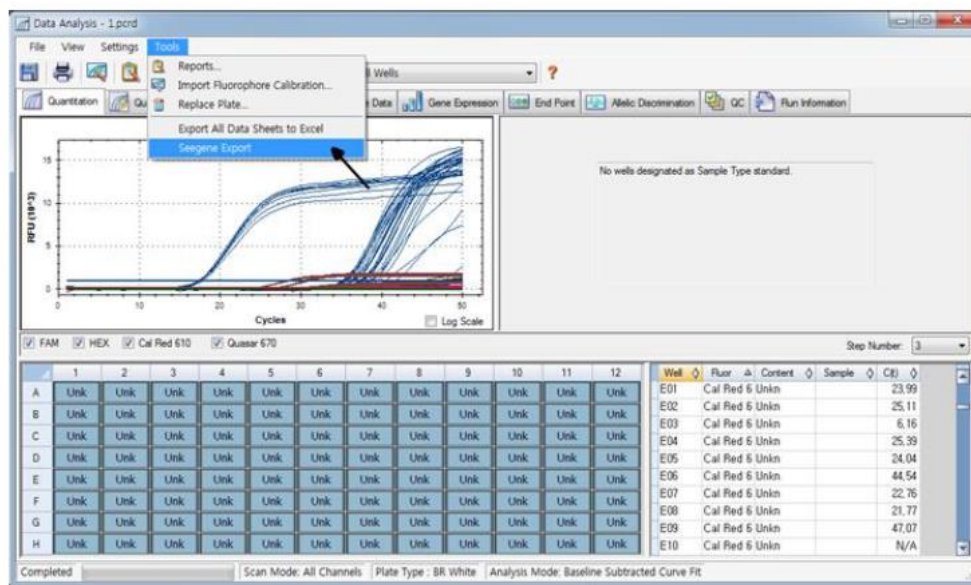


Fig. 10. Seegene Export

3) Elija una ubicación para guardar datos y haga clic en **OK**.

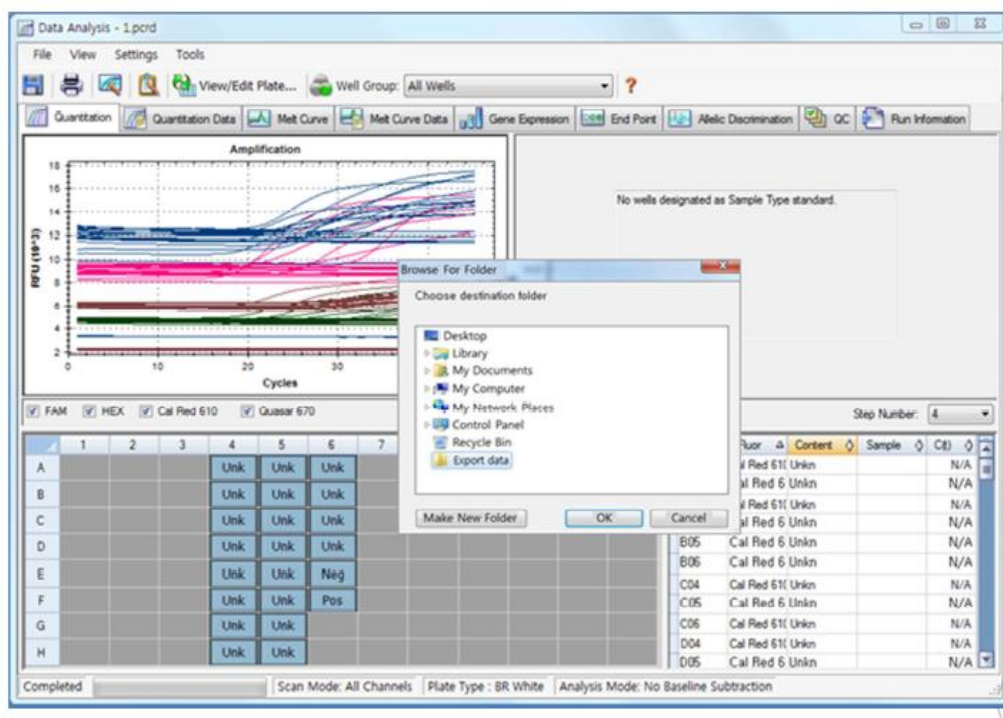


Fig. 11. Seegene Exportar a la carpeta designada

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Configuración para el análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa **Seegene Viewer** y haga clic en Opción para seleccionar CFX96 en el Instrumento.

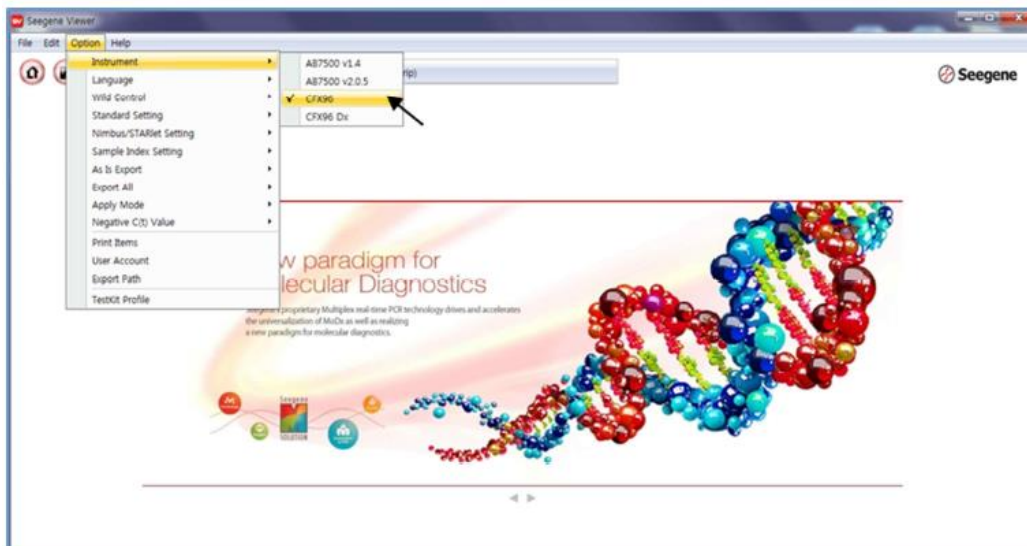


Fig. 12. Seegene Viewer

2) Haga clic en **Open** para buscar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep3", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT**.

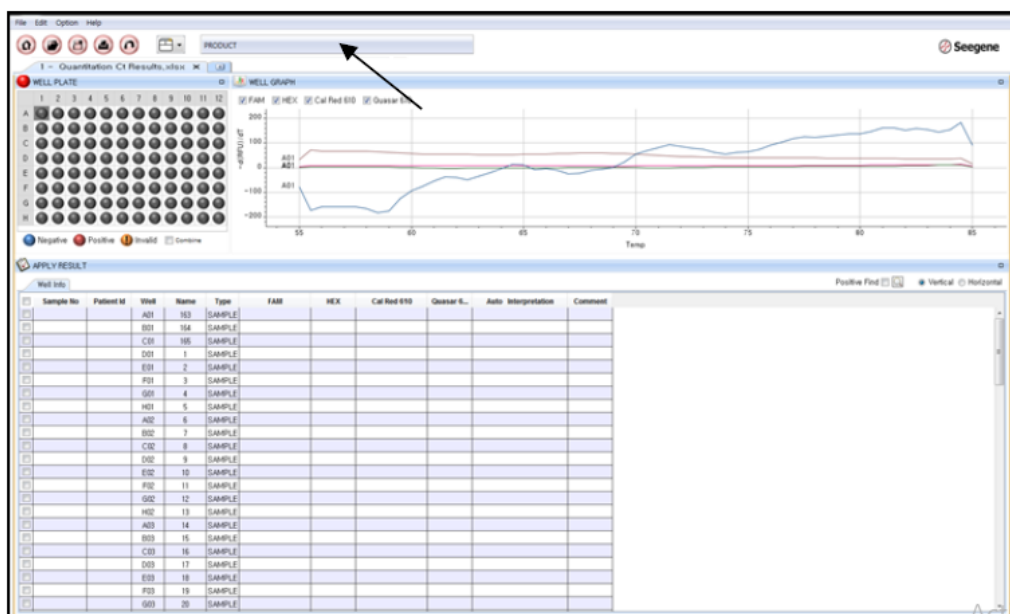


Fig. 13. Configuración para el análisis de datos en Seegene Viewer

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3) Verifique el resultado para cada pocillo.



Fig. 14. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

4) Criterios de validez de los resultados de control

a. Ejecución de ensayo válida

Para confirmar la validez de los experimentos, las series de PCR deben ir acompañadas de PC (control positivo) y NC (control negativo). La ejecución del ensayo se determina como válida cuando se cumplen todos los siguientes criterios:

Control	Reacción	Resultado del visor de Seegene (Ct)				Interpretación automática
		FAM	HEX	Cal Red 610	Quasar 670	
Control Positivo	MTBe	Ct ≤ 28	-	-	Ct ≤ 29	Control Positivo (+)
	MDRe	-	Positivo	Positivo	Positivo	
	XDRe	-	Positivo	Positivo	Positivo	
Control Negativo	MTBe	N/A	-	-	N/A	Control Negativo (-)
	MDRe	-	N/A	N/A	N/A	
	XDRe	-	N/A	N/A	N/A	

b. Ejecución de ensayo no válida

En casos de falla de validez, los resultados no deben interpretarse ni informarse. Y la reacción de PCR debe repetirse.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17583

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. CFX96TM Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)

2.1. Configuración del instrumento PCR Real-time

Nota: Para el análisis de datos simple en Seegene Viewer, instale cada tubo de reacción MTBe, MDRe, XDRe en la posición especificada en el bloque de la siguiente manera.

- **MTBe: columna 1 ~ 4**

- **MDRe: columna 5 ~ 8**

- **XDRe: columna 9 ~ 12**

Nota: La configuración del experimento del CFX96TM Dx System (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos:

Configuración del protocolo, configuración de la placa e inicio de ejecución.

A. Configuración del protocolo

1) En el menú principal, seleccione **File→New → Protocol** abrir Protocol Editor.

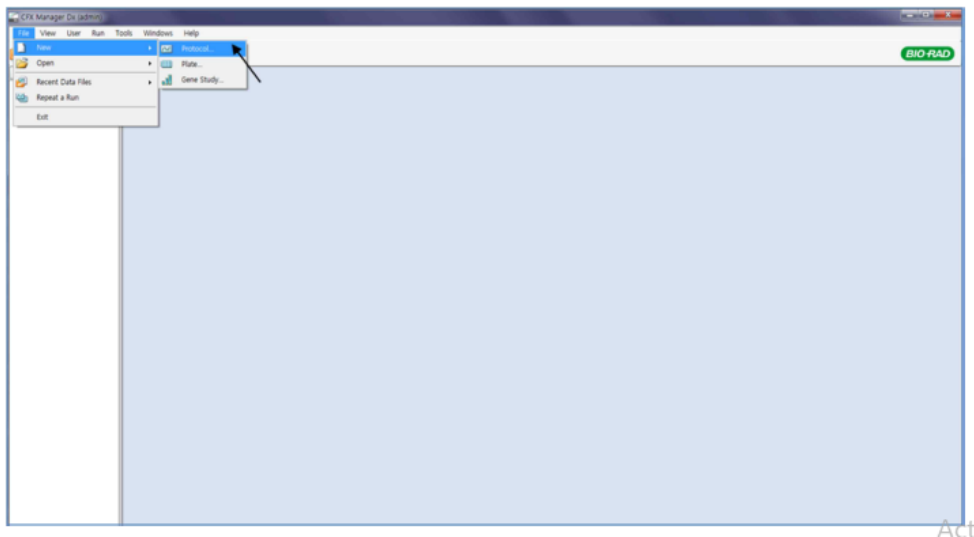


Fig. 1. **Configuración del protocolo.** Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para la ejecución

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) En el **Protocol Editor**, defina el perfil térmico de la siguiente manera:

Step	No. of cycles	Temperature	Duration
1	1	95°C	15 min
2		95°C	30 sec
3*	50	60°C	1 min
4		72°C	30 sec
5		GOTO Step 2, 49 more times	
6	1	55°C	30 sec
7*	1	Melting curve 55°C ~ 85°C (5 sec/0.5°C)	

* **Lectura de placa en los pasos 3 y 7.** Se detecta fluorescencia a 60 ° C y curva de fusión.

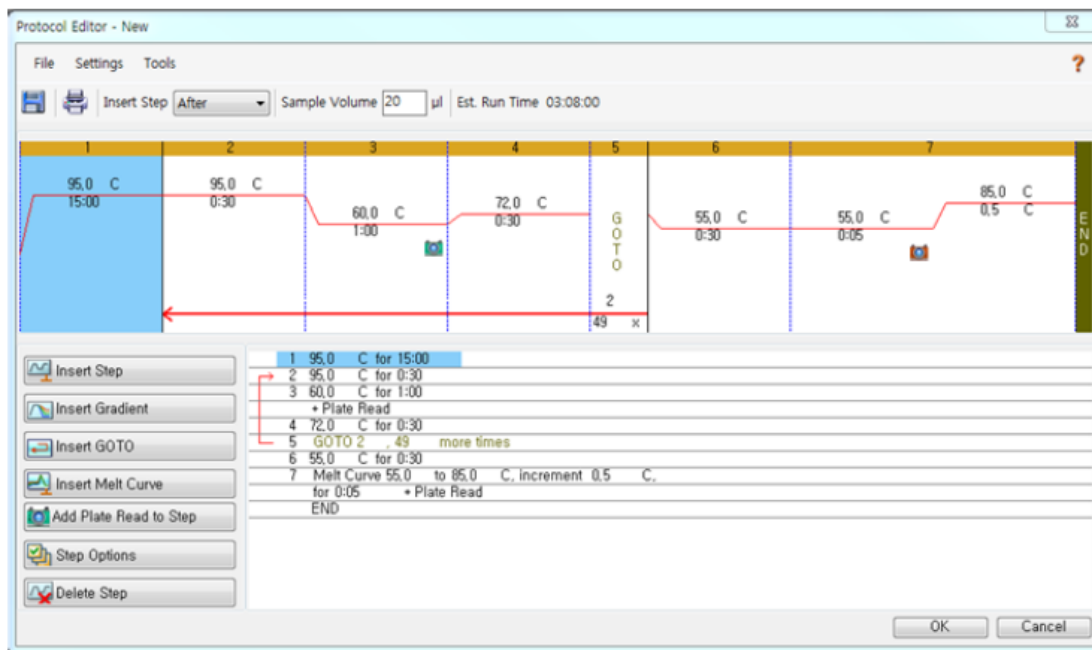


Fig. 2. **Protocol Editor**

3) Haga clic en la casilla **Sample Volume** para ingresar directamente 20 µL.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Haga clic en **OK** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup**.

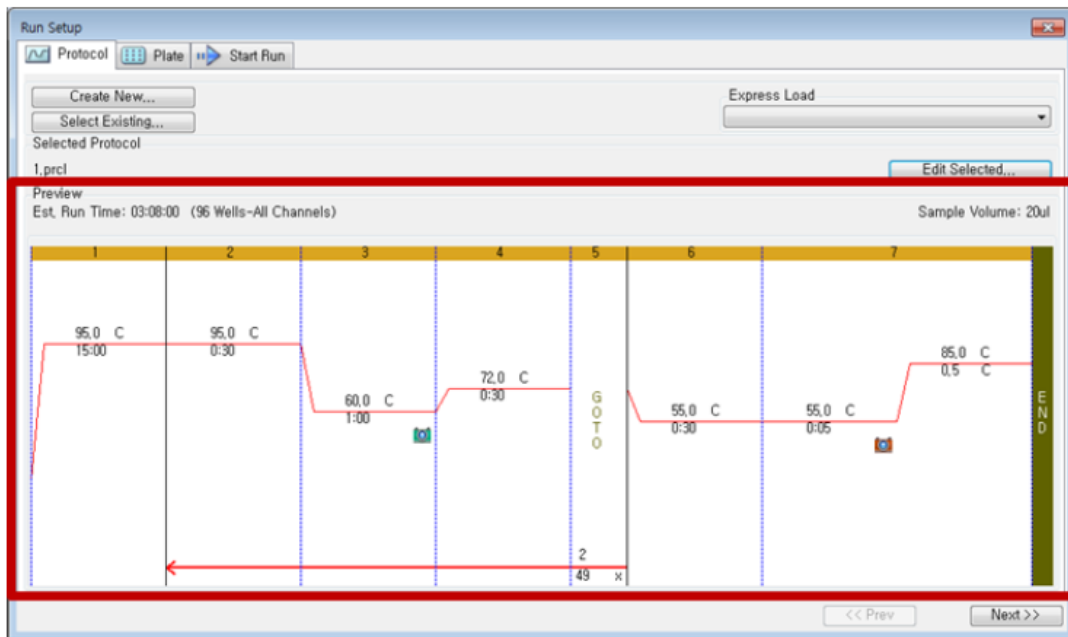


Fig. 3. Run Setup: Protocol

B. Configuración de la placa

1) Desde la pestaña **Plate** en **Run Setup**, haga clic en **Create New** para abrir la ventana **Plate Editor**.



Fig. 4. Plate Editor Crea un plato nuevo

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Select Fluorophores** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) que se utilizarán y haga clic en **OK**.

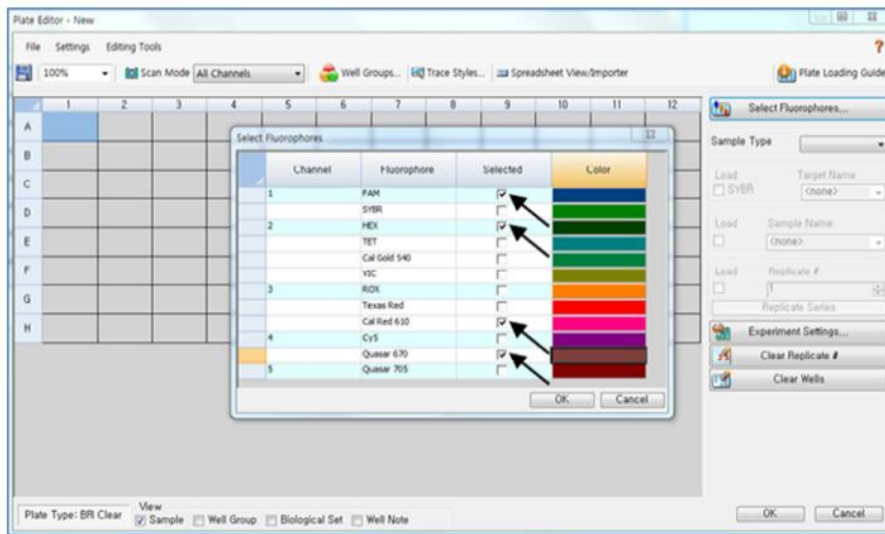


Fig. 5. Seleccione fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type**.

- **Desconocido:** Muestras clínicas y controles de tipo salvaje
- **Control negativo**
- **Control positivo**

4) Haga clic en las casillas de verificación apropiadas (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluoróforos a detectar en los pozos seleccionados.

5) Escriba el **Nombre de la muestra** y presione la tecla Intro.

Nota: En los casos de control de tipo salvaje, se debe escribir el nombre correcto de la siguiente manera.

- **WTCe para la reacción MTBe**
- **MWTCe para reacción MDRe**
- **XWTCe para reacción XDRe**

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

6) En Configuración del menú principal del **Plate Editor**, elija **Plate Size (96 wells)** y **Plate Type (BR White)**.

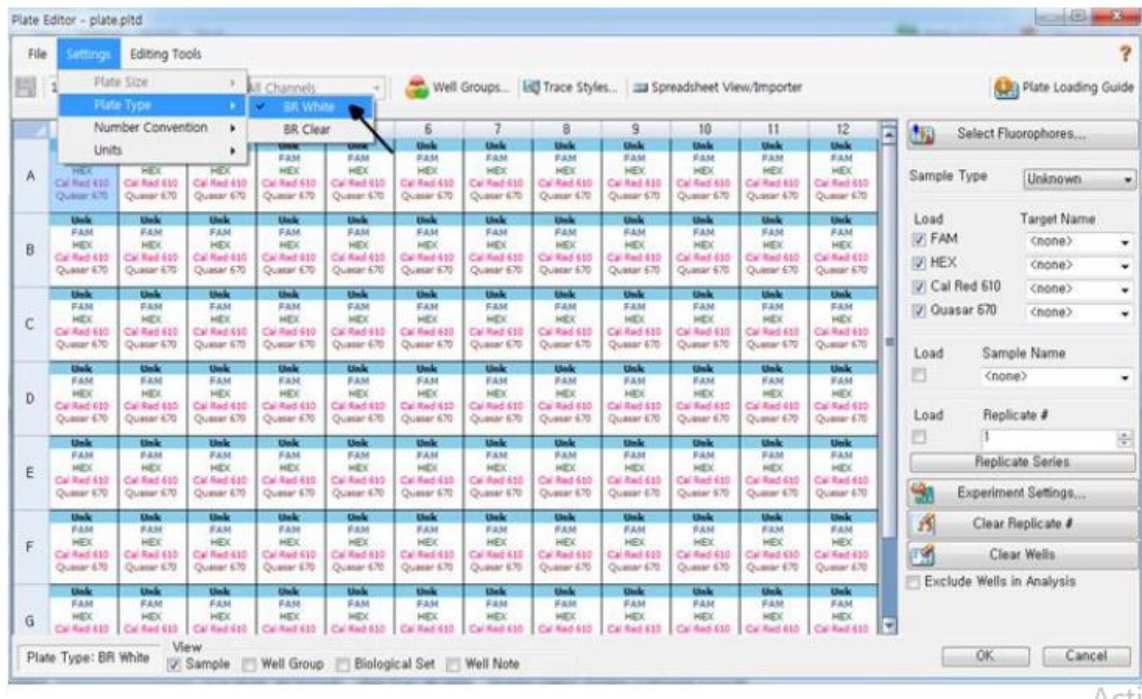


Fig. 6. Plate Setup

7) Haga clic en **OK** para guardar la nueva placa.

8) Volverá a la ventana **Run Setup**.

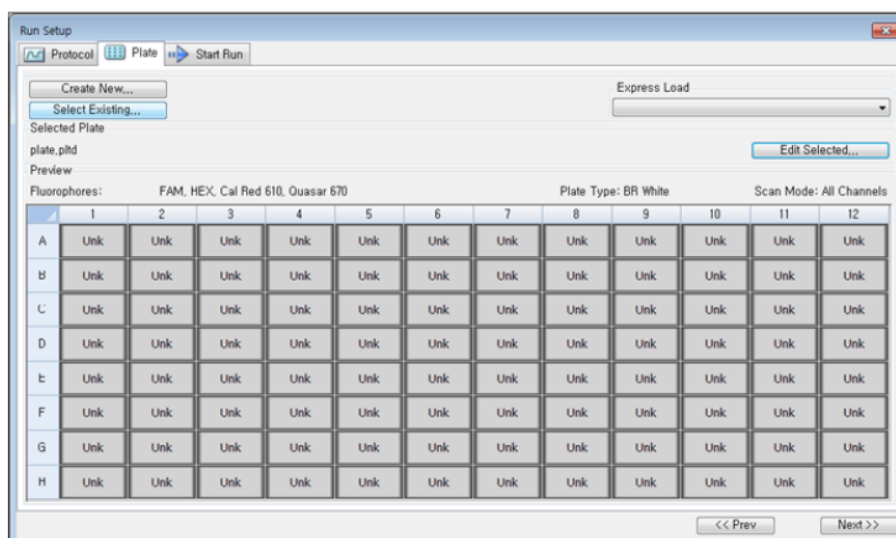


Fig. 7. Configuración de ejecución: plate

9) Haga clic en **Next** para comenzar a ejecutar.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Comenzar a correr

1) En la pestaña **Start Run** en **Run Setup**, haga clic en **Close Lid** para cerrar la tapa del instrumento.

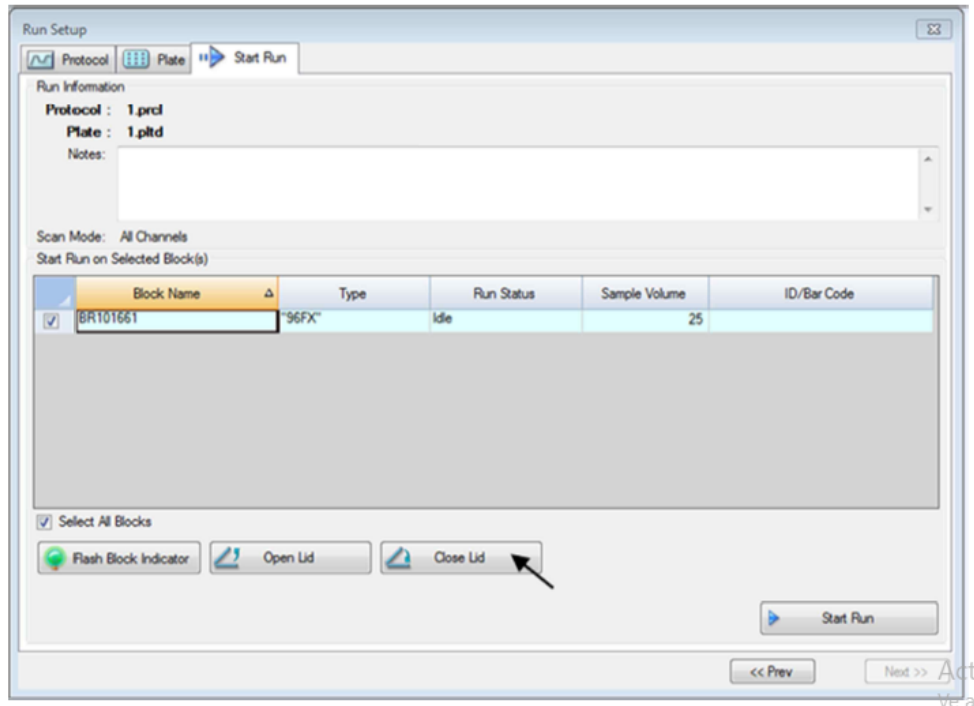


Fig. 8. Close Lid

2) Haga clic en **Start Run**.

3) Almacene el archivo de ejecución en Mis documentos o en una carpeta designada. Ingrese el nombre del archivo, haga clic en **SAVE** y comenzará la ejecución.

2.2. Análisis de los datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Para guardar datos para todos los pasos de detección de curva de amplificación del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El nombre de la carpeta puede ser el deseado por el usuario (para la función "Seegene Export", las carpetas "QuantStep3" y "MeltStep7" se crean automáticamente para guardar los datos de cada curva de amplificación en la carpeta creada por el usuario).

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Preconfiguraciones para el análisis de datos en CFX Manager™

1) Después de la prueba, haga clic en la pestaña Cuantificación para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

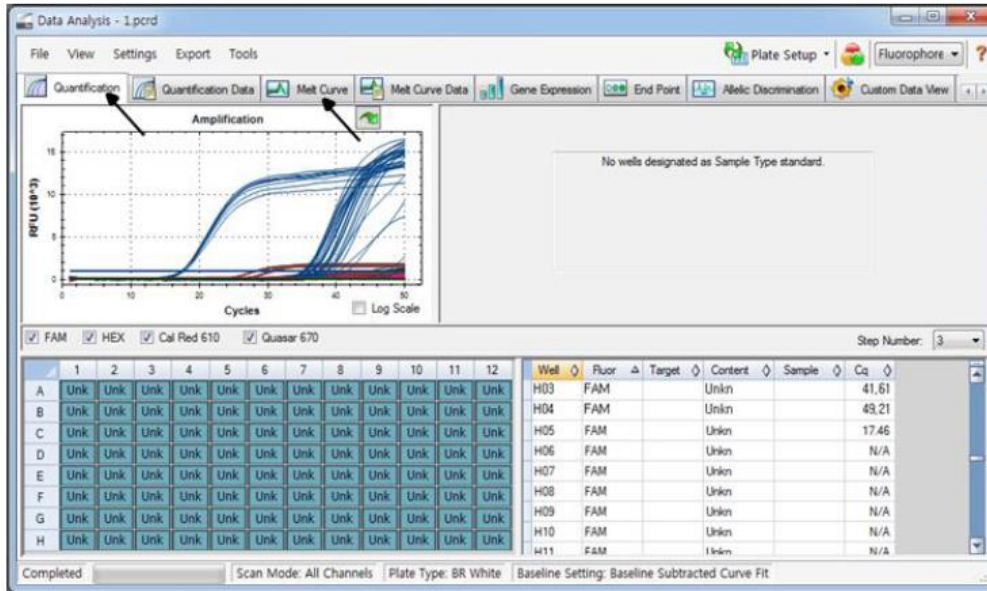


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

2) Seleccione **Seegene Export** para Exportar Menu.

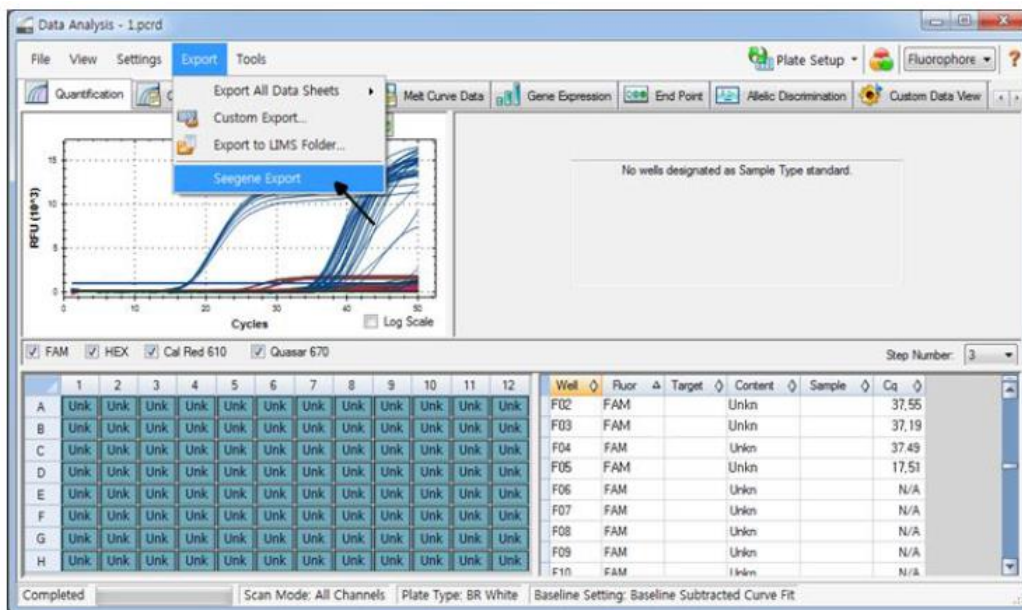


Fig. 10. Seegene Export

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Directora Técnica
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3) Elija una ubicación para guardar datos y haga clic en **OK**.

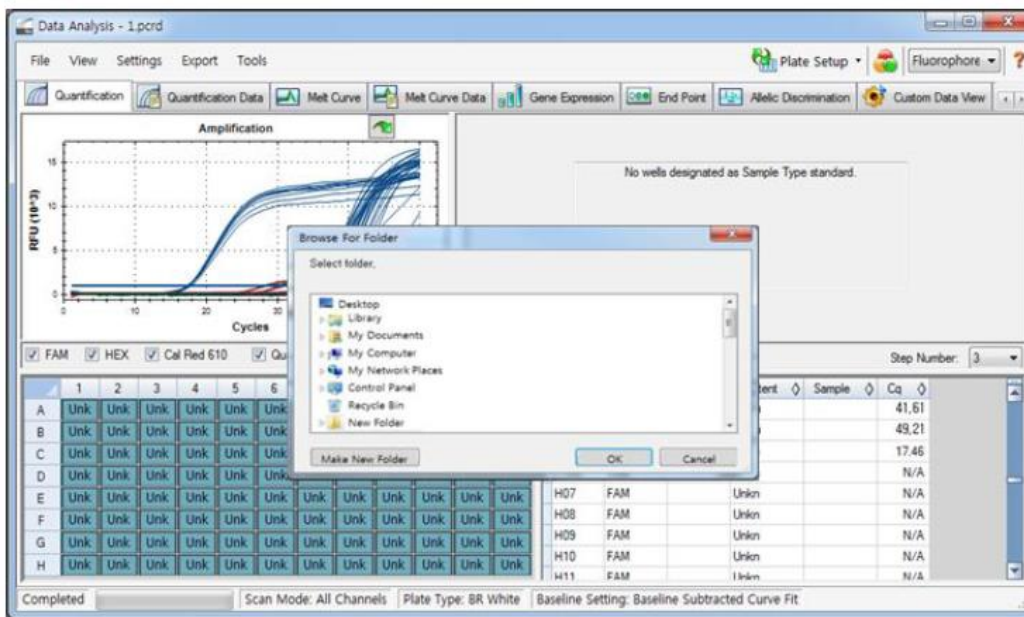


Fig. 11. Seegene Exportar a la carpeta designada

C. Configuración para el análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option** para seleccionar **CFX96 Dx** en el Instrumento.

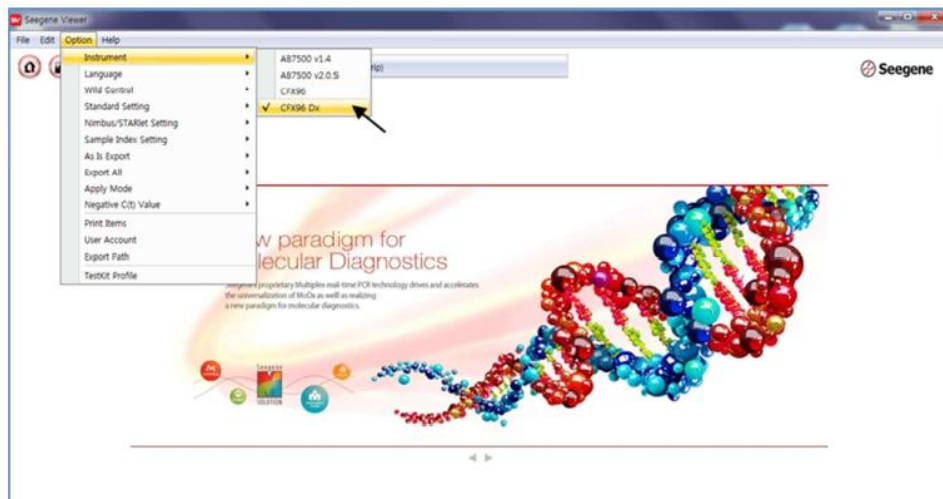


Fig. 13. Seegene Viewer

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open** para buscar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep3", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT**.

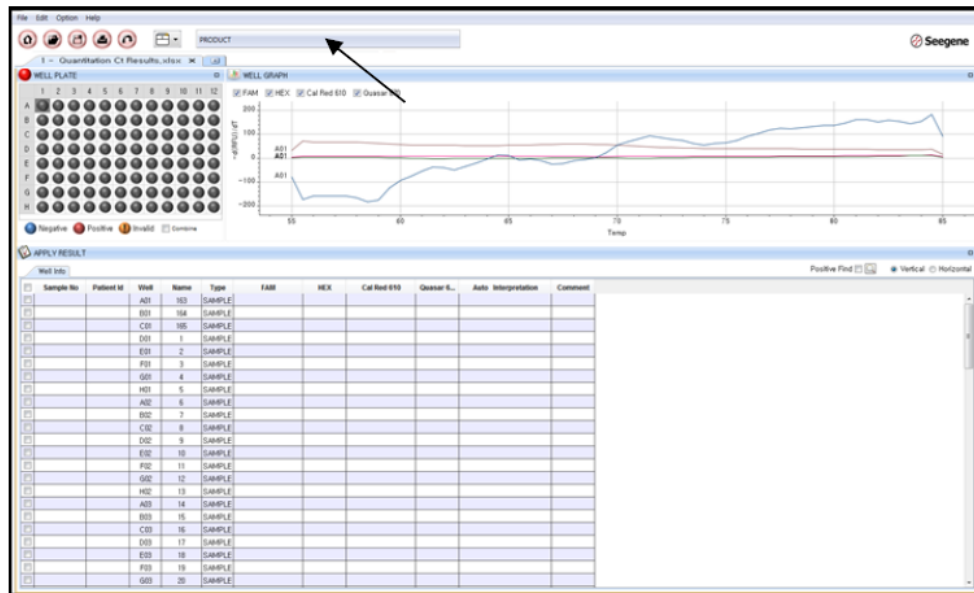


Fig. 13. Configuración para el análisis de datos en Seegene Viewer

3) Verifique el resultado para cada pocillo.

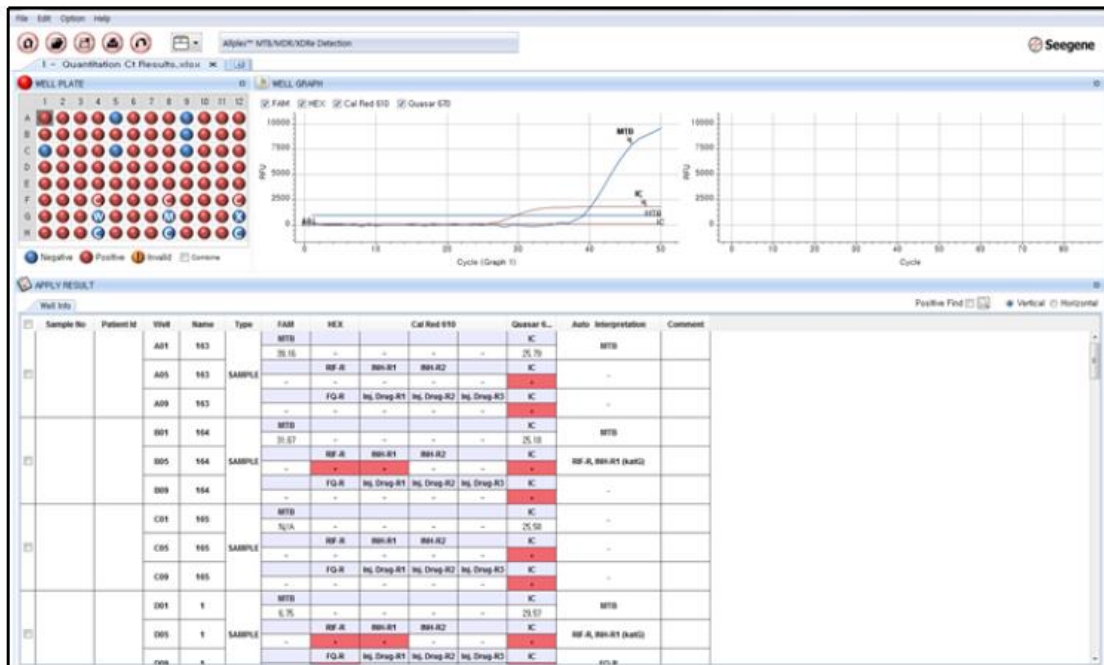


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Criterios de validez de los resultados de control

a. Ejecución de ensayo válida

Para confirmar la validez de los experimentos, las series de PCR deben ir acompañadas de PC (control positivo) y NC (control negativo). La ejecución del ensayo se determina como válida cuando se cumplen todos los siguientes criterios:

Control	Reacción	Resultado del visor de Seegene (Ct)				Interpretación automática
		FAM	HEX	Cal Red 610	Quasar 670	
Control Positivo	MTBe	Ct ≤ 28	-	-	Ct ≤ 29	Control Positivo (+)
	MDRe	-	Positivo	Positivo	Positivo	
	XDRe	-	Positivo	Positivo	Positivo	
Control Negativo	MTBe	N/A	-	-	N/A	Control Negativo (-)
	MDRe	-	N/A	N/A	N/A	
	XDRe	-	N/A	N/A	N/A	

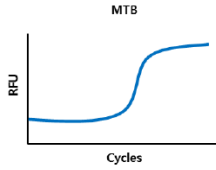
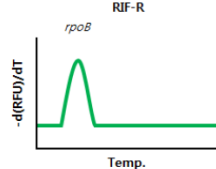
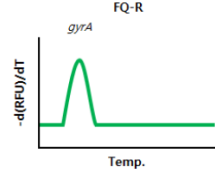
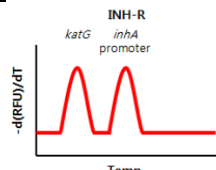
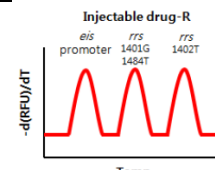
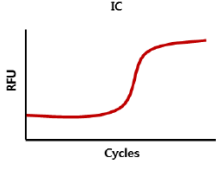
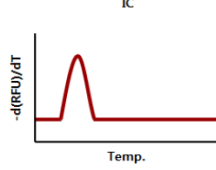
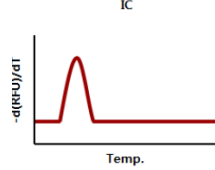
b. Ejecución de ensayo no válida

En casos de falla de validez, los resultados no deben interpretarse ni informarse. Y la reacción de PCR debe repetirse.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1. Información del analito

Fluoróforo	MTBe	MDRe	XDRe
FAM		Sin objetivo	Sin objetivo
HEX	Sin objetivo		
Cal Red 610	Sin objetivo		
Quasar 670			

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

<MTBe>

Fluoróforo	Analito	Resultado en Seegene Viewer
FAM	MTB	MTB
Cal Red 610	IC	IC

<MDRe>

Fluoróforo	Analito	Resultado en Seegene Viewer
HEX	RIF-R (18 mutaciones en rpoB)	RIF-R
Cal Red 610	INH-R (4 mutaciones en katG)	INH-R1 (katG)
	INH-R (3 mutaciones en el promotor inhA)	INH-R2 (inhA)
Quasar 670	IC	IC

<XDRe>

Fluoróforo	Analito	Resultado en Seegene Viewer
HEX	FQ-R (7 mutaciones en gyrA)	FQ-R
Cal Red 610	Inj. droga-R (3 mutaciones en el promotor eis)	Inj. drug-R1 (eis)
	Inj. droga-R (2 mutaciones en rrs: 1401G y 1484T)	Inj. drug-R2 (rrs)
	Inj. droga-R (1 mutación en rrs: 1402T)	Inj. drug-R3 (rrs 1402T)
Quasar 670	IC	IC

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Interpretación de los resultados

2.1. Reacción MTBe

Valor C _t	Resultado
≤ 45	Detectado (+)
> 45 o N/A	No Detectado (-)

Caso	Resultado		Interpretación
	IC (Quasar 670)	MTB (FAM)	
1	+	+	MTB detectado
2	+	-	MTB no detectado
3	-	+	MTB detectado
4	-	-	Invalido ¹⁾

2.2. Reacción MDRe

El resultado de la reacción de MDRe depende del resultado de la reacción de MTBe.

A. En caso de "MTB detectado"

Caso	IC (Quasar 670)	Resultado		Interpretación
		RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	INH-R & RIF-R detectado
2		+	-	RIF-R detectado
3		-	+	INH-R detectado
4		-	-	MTB detectado
5	-	+/-	+/-	Invalido ²⁾

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. En caso de "MTB no detectado"

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	Invalido ³⁾
2		+	-	Invalido ³⁾
3		-	+	Invalido ³⁾
4		-	-	-
5	-	+/-	+/-	Invalido ²⁾

C. En caso de reacción MTBe 'Inválido'

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	Invalido ¹⁾
2		+	-	
3		-	+	
4		-	-	
5	-	+/-	+/-	

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2.3. Reacción XDRe

El resultado de la reacción de XDRe depende del resultado de la reacción de MTBe.

A. En caso de "MTB detectado"

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	FQ-R & Inj. drug-R detectado
2		+	-	FQ-R detectado
3		-	+	Inj. drug-R detectado
4		-	-	MTB detectado
5	-	+/-	+/-	Invalido ²⁾

B. En caso de "MTB no detectado"

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	Invalido ³⁾
2		+	-	Invalido ³⁾
3		-	+	Invalido ³⁾
4		-	-	-
5	-	+/-	+/-	Invalido ¹⁾

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. En caso de reacción MTBe 'Inválido'

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	Invalido ¹⁾
2		+	-	
3		-	+	
4		-	-	
5		-	+/-	

2.4 Explicación complementaria sobre Invalid

No válido 1) Repita la prueba de la extracción de ácido nucleico utilizando otra alícuota de la muestra original. Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico reextraído, diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en agua libre de ARNasa y repita la extracción (después de agregar MTB / DRe IC) y PCR.

No válido 2) El resultado de la prueba de MTB es válido. Para confirmar el resultado de la farmacoresistencia, repita la prueba de extracción de ácido nucleico usando otra alícuota de la muestra original. Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico reextraído, diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en agua libre de ARNasa y repita la extracción (después de agregar MTB / DRe IC) y PCR.

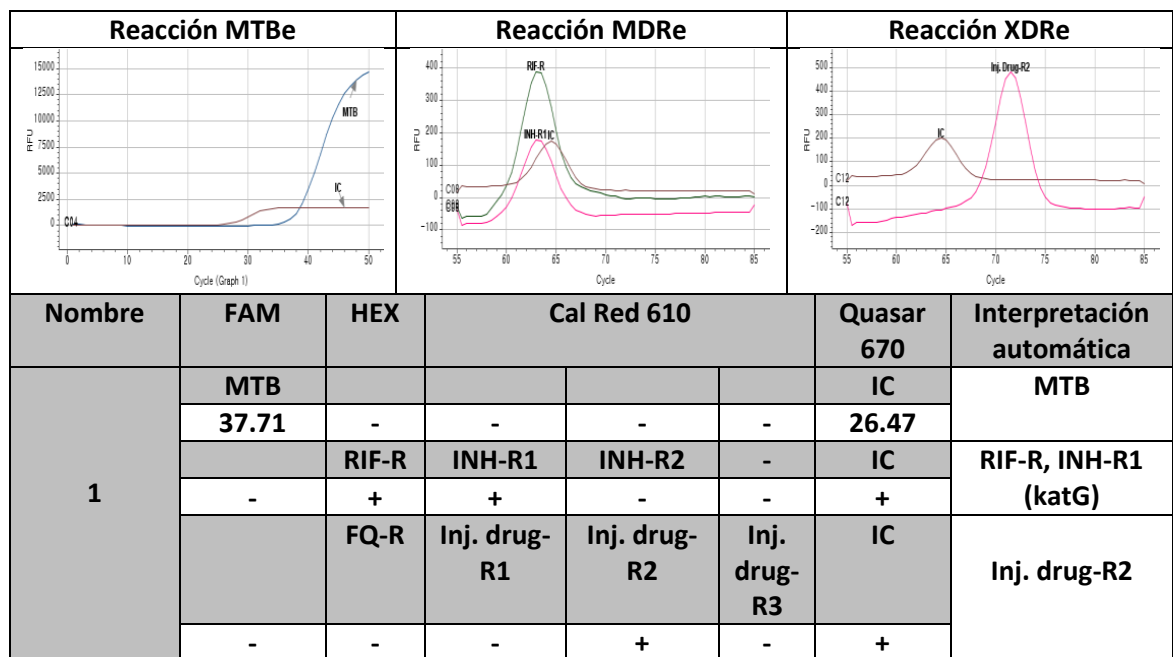
No válido 3) No se detecta MTB pero se detecta resistencia a los medicamentos. Repita la prueba de extracción de ácido nucleico utilizando otra alícuota de la muestra original. Si se muestra el mismo resultado, consulte los resultados de otros métodos de diagnóstico.

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

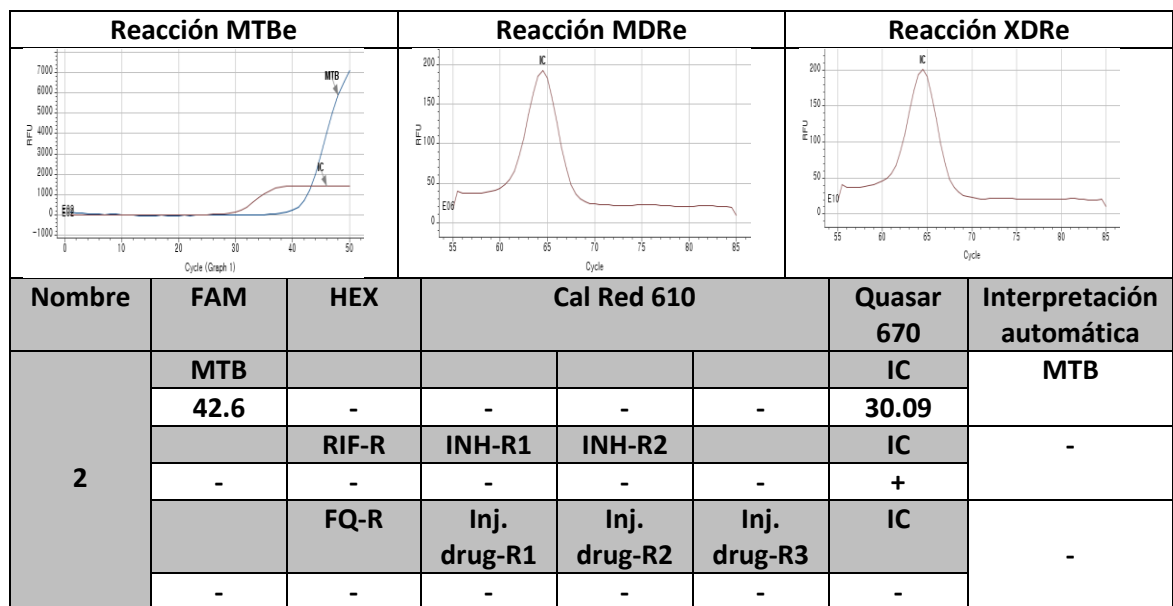
Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Aplicación a muestras clínicas

Muestra 1



Muestra 2



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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection		
OBSERVACIÓN	CAUSAS PROBABLES	SOLUCIÓN
Sin señal	Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo.	Seleccione los fluoróforos correctos para el análisis de datos y exporte los datos nuevamente. No hay necesidad de repetir la prueba en este caso.
	Configuración incorrecta del termociclador en tiempo real	Verifique las condiciones del ciclo térmico y repita la prueba con la configuración correcta.
	Almacenamiento incorrecto o fecha de caducidad pasada del kit de prueba	Compruebe las condiciones de almacenamiento (consulte la página 11) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit de prueba y use un kit nuevo si es necesario.
	Fracaso de extracción de ácido nucleico	Ninguna señal que incluya IC puede indicar pérdida de ácido nucleico durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado. Si se debe a inhibidores, vuelva a extraer la muestra original o diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.
No hay señal de control interno	Alta carga de ácido nucleico del patógeno.	Si se observa la señal del patógeno objetivo pero no IC, entonces la amplificación de IC puede haber sido inhibida por un alto título del patógeno objetivo. Para confirmar la señal IC, diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.
	Presencia de inhibidor de RT-PCR	Diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.
Señales de falso positivo o objetivo putativas observadas en el control negativo	Contaminación	Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Utilice únicamente puntas de filtro durante todo el procedimiento y cambie las puntas entre tubos. Repita todo el procedimiento de extracción de ácido nucleico con un nuevo conjunto de reactivos.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection		
OBSERVACIÓN	CAUSAS PROBABLES	SOLUCIÓN
Putativo falso negativo o ninguna señal observada en control positivo	Error en la recolección de muestras	Verifique el método de recolección de muestras y vuelva a recolectarlas.
	Almacenamiento incorrecto de la muestra.	Vuelva a recoger la muestra y repita todo el procedimiento. Asegúrese de que la muestra se almacene como se recomienda.
	Error en la extracción de ácido nucleico	Verifique el procedimiento de extracción de ácido nucleico, así como la concentración de ácido nucleico, y vuelva a extraer el ácido nucleico.
	Error al agregar ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes	Verifique el número de muestras de tubos que contienen ácido nucleico y asegúrese de agregar ácido nucleico en los tubos de PCR correctos y repita cuidadosamente la prueba si es necesario.
	Presencia de inhibidor	Diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.
	Mezcla de PCR incorrecta	Confirme que todos los componentes se agregan a la mezcla RTPCR (la sensibilidad se ve comprometida con la premezcla precompuesta). Todos los reactivos deben homogeneizarse y centrifugarse antes de su uso.
Solo se detectó el subtipo del virus de la influenza A pero no el virus de la influenza A	Título bajo del ácido nucleico del patógeno	Los resultados deben interpretarse de acuerdo con la tabla de interpretación proporcionada, pero se puede realizar una nueva prueba si se desea con un volumen reducido de agua libre de ARNasa y un volumen mayor de ácido nucleico.
Picos en cualquier ciclo de curva de amplificación	Burbuja en el tubo de PCR	Centrifugue el tubo de PCR antes de ejecutarlo.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

RENDIMIENTO
1. Especificidad

La alta especificidad de Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection está garantizada por los oligos diseñados específicamente para los objetivos de interés en las condiciones de reacción establecidas. Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection se probó para determinar la reactividad cruzada con 122 patógenos diferentes, y la amplificación y detección por PCR solo se identificó en los objetivos especificados.

1.1. MTBe

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
1	Mycobacterium tuberculosis	KMRC	0110-00007	+	-
2	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L511P)	ADN plásmido		+	+
3	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513K)	ADN plásmido		+	+
4	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513L)	ADN plásmido		+	+
5	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513P)	ADN plásmido		+	+
6	Mycobacterium tuberculosis (rpoB 3 amino acid deletion in 513~516)	ADN plásmido		+	+
7	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516V)	ADN plásmido		+	+
8	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516Y)	ADN plásmido		+	+
9	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522L)	ADN plásmido		+	+
10	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522Q)	ADN plásmido		+	+
11	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526C)	ADN plásmido		+	+
12	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526D)	ADN plásmido		+	+
13	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526L)	ADN plásmido		+	+
14	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526N)	ADN plásmido		+	+
15	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526R)	ADN plásmido		+	+
16	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526Y)	ADN plásmido		+	+
17	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531L)	ADN plásmido		+	+
18	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531W)	ADN plásmido		+	+
19	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L533P)	ADN plásmido		+	+
20	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACC))	ADN plásmido		+	+

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
21	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACA))	ADN plásmido		+	+
22	Mycobacterium tuberculosis (katG S315N)	ADN plásmido		+	+
23	Mycobacterium tuberculosis (katG S315I)	ADN plásmido		+	+
24	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter - 15T)	ADN plásmido		+	+
25	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter - 8A)	ADN plásmido		+	+
26	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter - 8C)	ADN plásmido		+	+
27	Mycobacterium tuberculosis (gyrA A90V)	ADN plásmido		+	+
28	Mycobacterium tuberculosis (gyrA S91P)	ADN plásmido		+	+
29	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94A)	ADN plásmido		+	+
30	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94G)	ADN plásmido		+	+
31	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94H)	ADN plásmido		+	+
32	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94N)	ADN plásmido		+	+
33	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94Y)	ADN plásmido		+	+
34	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1401G)	ADN plásmido		+	+
35	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1402T)	ADN plásmido		+	+
36	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1484T)	ADN plásmido		+	+
37	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -37T)	ADN plásmido		+	+
38	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -14T)	ADN plásmido		+	+
39	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter - 10A)	ADN plásmido		+	+
40	Mycobacterium abscessus	ATCC	19977D-5	+	-
41	Mycobacterium asiaticum	KCTC	9503	+	-
42	Mycobacterium avium (Chester)	ATCC	700735	+	-
43	Mycobacterium avium subsp. avium	ATCC	25291	+	-
44	Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis	ATCC	19698	+	-
45	Mycobacterium avium subsp. silvaticum	ATCC	49884	+	-
46	Mycobacterium avium subsp. suis	ATCC	19978	+	-
47	Mycobacterium celatum	ATCC	51131	+	-
48	Mycobacterium chelonae	KCTC	9505	+	-
49	Mycobacterium fallax	KCTC	9508	+	-
50	Mycobacterium fortuitum subsp. acetamidolyticum	ATCC	43266	+	-

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

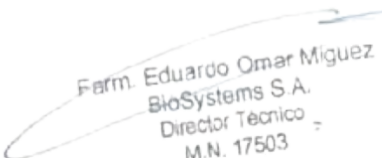
Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
51	Mycobacterium fortuitum subsp. fortuitum	KCTC	1122	+	-
52	Mycobacterium fortuitum subsp. thermophilum	ATCC	27408	+	-
53	Mycobacterium gastri	ATCC	25162	+	-
54	Mycobacterium gordonae	KCTC	9513	+	-
55	Mycobacterium intracellulare	ATCC	25122	+	-
56	Mycobacterium kansasii	KCTC	9515	+	-
57	Mycobacterium lentiflavum	ATCC	51988	+	-
58	Mycobacterium malmoense	ATCC	29571	+	-
59	Mycobacterium marinum	ATCC	BAA535D-5	+	-
60	Mycobacterium massiliense	KCTC	19086	+	-
61	Mycobacterium morioakaense	KCTC	9516	+	-
62	Mycobacterium mucogenicum	KCTC	19088	+	-
63	Mycobacterium neoaurum	KCTC	19096	+	-
64	Mycobacterium nonchromogenicum	ATCC	25265	+	-
65	Mycobacterium phlei	KCTC	9087	+	-
66	Mycobacterium porcinum	KCTC	9517	+	-
67	Mycobacterium seoulense	KCTC	19146	+	-
68	Mycobacterium simiae	ATCC	BAA-1478	+	-
69	Mycobacterium smegmatis	KCTC	9108	+	-
70	Mycobacterium szulgai	KCTC	9520	+	-
71	Mycobacterium terrae	KCTC	9614	+	-
72	Mycobacterium triviale	ATCC	23292	+	-
73	Mycobacterium ulcerans	ATCC	33728	+	-
74	Mycobacterium vaccae	KCTC	19087	+	-
75	Arthrobacter oxydans	KCTC	3383	+	-
76	Arthrobacter woluwensis	KCTC	9905	+	-
77	Corynebacterium amycolatum	KCTC	3432	+	-
78	Corynebacterium aquaticum	KCTC	9098	+	-
79	Corynebacterium diphtheriae	KCTC	3075	+	-
80	Corynebacterium durum	KCTC	19318	+	-

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
81	Corynebacterium flavescens	KCTC	3414	+	-
82	Corynebacterium genitalium	ATCC	33030	+	-
83	Corynebacterium glutamicum	KCTC	1854	+	-
84	Corynebacterium imitans	ATCC	700354	+	-
85	Corynebacterium jeikeium	KCCM	41661	+	-
86	Corynebacterium pseudodiphtheriticum	ATCC	10700	+	-
87	Corynebacterium striatum	ATCC	43751	+	-
88	Corynebacterium tuberculostearicum	ATCC	35692	+	-
89	Corynebacterium ulcerans	ATCC	51799	+	-
90	Corynebacterium xerosis	KCTC	3435	+	-
91	Dietzia sp.	KCTC	19232	+	-
92	Gordonia bronchialis	KCTC	3076	+	-
93	Gordonia polyisoprenivorans	ATCC	BAA-14	+	-
94	Gordonia rubripertincta	ATCC	27864	+	-
95	Gordonia sputi	KCTC	3436	+	-
96	Nocardia abscessus	ATCC	23824	+	-
97	Nocardia asteroides	KCTC	9956	+	-
98	Nocardia blacklockiae	ATCC	BAA-1635	+	-
99	Nocardia brasiliensis	KCTC	9136	+	-
100	Nocardia farcinica	KCTC	9958	+	-
101	Nocardia nova	ATCC	33727	+	-
102	Nocardia pseudobrasiliensis	ATCC	51512	+	-
103	Nocardia transvalensis	ATCC	29982	+	-
104	Nocardia wallacei	ATCC	BAA-1636	+	-
105	Rhodococcus equi	KCTC	1298	+	-
106	Candida albicans	ATCC	7965	+	-
107	Escherichia coli	KCCM	11591	+	-
108	Enterococcus faecalis	ATCC	51299	+	-
109	Enterococcus faecium	ATCC	51559	+	-
110	Haemophilus ducreyi	ATCC	700724D-5	+	-


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


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
111	Pseudomonas aeruginosa	KCTC	47085D	+	-
112	Rothia dentocariosa	KCTC	19319	+	-
113	Streptococcus pneumoniae	KCTC	BAA-255D	+	-
114	Klebsiella pneumoniae	KCCM	40890	+	-
115	Staphylococcus aureus	KCCM	40881	+	-
116	Staphylococcus epidermidis	KCCM	35494	+	-
117	Streptococcus pyogenes	KCCM	40411	+	-
118	Streptococcus mitis	KCTC	3556	+	-
119	Neisseria meningitidis	ATCC	700532D	+	-
120	Bordetella pertussis	ATCC	BAA-589D	+	-
121	Legionella pneumophila	KCCM	41783	+	-
122	Human genomic DNA (500 ng)	Biochain	D1234275	+	-

1.2. MDRe

N°	Organismo	Cepa N°		MDR†		
				IC	INH-R	RIF-R
1	Mycobacterium tuberculosis	KMRC	0110-00007	+	-	-
2	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L511P)	ADN plásmido		+	-	+
3	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513K)	ADN plásmido		+	-	+
4	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513L)	ADN plásmido		+	-	+
5	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513P)	ADN plásmido		+	-	+
6	Mycobacterium tuberculosis (rpoB 3 amino acid deletion in 513~516)	ADN plásmido		+	-	+
7	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516V)	ADN plásmido		+	-	+
8	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516Y)	ADN plásmido		+	-	+
9	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522L)	ADN plásmido		+	-	+
10	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522Q)	ADN plásmido		+	-	+
11	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526C)	ADN plásmido		+	-	+
12	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526D)	ADN plásmido		+	-	+
13	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526L)	ADN plásmido		+	-	+
14	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526N)	ADN plásmido		+	-	+
15	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526R)	ADN plásmido		+	-	+
16	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526Y)	ADN plásmido		+	-	+
17	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531L)	ADN plásmido		+	-	+
18	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531W)	ADN plásmido		+	-	+
19	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L533P)	ADN plásmido		+	-	+
20	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACC))	ADN plásmido		+	+	-
21	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACA))	ADN plásmido		+	+	-
22	Mycobacterium tuberculosis (katG S315N)	ADN plásmido		+	+	-
23	Mycobacterium tuberculosis (katG S315I)	ADN plásmido		+	+	-
24	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -15T)	ADN plásmido		+	+	-

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MDR†		
				IC	INH-R	RIF-R
25	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -8A)	ADN plásmido		+	+	-
26	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -8C)	ADN plásmido		+	+	-
27	Mycobacterium tuberculosis (gyrA A90V)	ADN plásmido		+	-	-
28	Mycobacterium tuberculosis (gyrA S91P)	ADN plásmido		+	-	-
29	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94A)	ADN plásmido		+	-	-
30	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94G)	ADN plásmido		+	-	-
31	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94H)	ADN plásmido		+	-	-
32	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94N)	ADN plásmido		+	-	-
33	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94Y)	ADN plásmido		+	-	-
34	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1401G)	ADN plásmido		+	-	-
35	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1402T)	ADN plásmido		+	-	-
36	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1484T)	ADN plásmido		+	-	-
37	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -37T)	ADN plásmido		+	-	-
38	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -14T)	ADN plásmido		+	-	-
39	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -10A)	ADN plásmido		+	-	-
40	Mycobacterium abscessus	ATCC	19977D-5	+	-	-
41	Mycobacterium asiaticum	KCTC	9503	+	-	-
42	Mycobacterium avium (Chester)	ATCC	700735	+	-	-
43	Mycobacterium avium subsp. avium	ATCC	25291	+	-	-
44	Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis	ATCC	19698	+	-	-
45	Mycobacterium avium subsp. silvaticum	ATCC	49884	+	-	-
46	Mycobacterium avium subsp. suis	ATCC	19978	+	-	-
47	Mycobacterium celatum	ATCC	51131	+	-	-
48	Mycobacterium chelonae	KCTC	9505	+	-	-
49	Mycobacterium fallax	KCTC	9508	+	-	-
50	Mycobacterium fortuitum subsp. acetamidolyticum	ATCC	43266	+	-	-
51	Mycobacterium fortuitum subsp. fortuitum	KCTC	1122	+	-	-
52	Mycobacterium fortuitum subsp. thermophilum	ATCC	27408	+	-	-
53	Mycobacterium gastri	ATCC	25162	+	-	-
54	Mycobacterium gordonae	KCTC	9513	+	-	-
55	Mycobacterium intracellulare	ATCC	25122	+	-	-
56	Mycobacterium kansasii	KCTC	9515	+	-	-
57	Mycobacterium lentiflavum	ATCC	51988	+	-	-

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°	MDR†			
			IC	INH-R	RIF-R	
58	Mycobacterium malmoense	ATCC	29571	+	-	-
59	Mycobacterium marinum	ATCC	BAA535D-5	+	-	-
60	Mycobacterium massiliense	KCTC	19086	+	-	-
61	Mycobacterium moriokaense	KCTC	9516	+	-	-
62	Mycobacterium mucogenicum	KCTC	19088	+	-	-
63	Mycobacterium neoaurum	KCTC	19096	+	-	-
64	Mycobacterium nonchromogenicum	ATCC	25265	+	-	-
65	Mycobacterium phlei	KCTC	9087	+	-	-
66	Mycobacterium porcinum	KCTC	9517	+	-	-
67	Mycobacterium seoulense	KCTC	19146	+	-	-
68	Mycobacterium simiae	ATCC	BAA-1478	+	-	-
69	Mycobacterium smegmatis	KCTC	9108	+	-	-
70	Mycobacterium szulgai	KCTC	9520	+	-	-
71	Mycobacterium terrae	KCTC	9614	+	-	-
72	Mycobacterium triviale	ATCC	23292	+	-	-
73	Mycobacterium ulcerans	ATCC	33728	+	-	-
74	Mycobacterium vaccae	KCTC	19087	+	-	-
75	Arthrobacter oxydans	KCTC	3383	+	-	-
76	Arthrobacter woluwensis	KCTC	9905	+	-	-
77	Corynebacterium amycolatum	KCTC	3432	+	-	-
78	Corynebacterium aquaticum	KCTC	9098	+	-	-
79	Corynebacterium diphtheriae	KCTC	3075	+	-	-
80	Corynebacterium durum	KCTC	19318	+	-	-
81	Corynebacterium flavescens	KCTC	3414	+	-	-
82	Corynebacterium genitalium	ATCC	33030	+	-	-
83	Corynebacterium glutamicum	KCTC	1854	+	-	-
84	Corynebacterium imitans	ATCC	700354	+	-	-
85	Corynebacterium jeikeium	KCCM	41661	+	-	-
86	Corynebacterium pseudodiphtheriticum	ATCC	10700	+	-	-
87	Corynebacterium striatum	ATCC	43751	+	-	-
88	Corynebacterium tuberculostearicum	ATCC	35692	+	-	-
89	Corynebacterium ulcerans	ATCC	51799	+	-	-
90	Corynebacterium xerosis	KCTC	3435	+	-	-
91	Dietzia sp.	KCTC	19232	+	-	-
92	Gordonia bronchialis	KCTC	3076	+	-	-
93	Gordonia polyisoprenivorans	ATCC	BAA-14	+	-	-
94	Gordonia rubripertincta	ATCC	27864	+	-	-
95	Gordonia sputi	KCTC	3436	+	-	-

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

Dra. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MDR†		
				IC	INH-R	RIF-R
96	Nocardia abscessus	ATCC	23824	+	-	-
97	Nocardia asteroides	KCTC	9956	+	-	-
98	Nocardia blacklockiae	ATCC	BAA-1635	+	-	-
99	Nocardia brasiliensis	KCTC	9136	+	-	-
100	Nocardia farcinica	KCTC	9958	+	-	-
101	Nocardia nova	ATCC	33727	+	-	-
102	Nocardia pseudobrasiliensis	ATCC	51512	+	-	-
103	Nocardia transvalensis	ATCC	29982	+	-	-
104	Nocardia wallacei	ATCC	BAA-1636	+	-	-
105	Rhodococcus equi	KCTC	1298	+	-	-
106	Candida albicans	ATCC	7965	+	-	-
107	Escherichia coli	KCCM	11591	+	-	-
108	Enterococcus faecalis	ATCC	51299	+	-	-
109	Enterococcus faecium	ATCC	51559	+	-	-
110	Haemophilus ducreyi	ATCC	700724D-5	+	-	-
111	Pseudomonas aeruginosa	KCTC	47085D	+	-	-
112	Rothia dentocariosa	KCTC	19319	+	-	-
113	Streptococcus pneumoniae	KCTC	BAA-255D	+	-	-
114	Klebsiella pneumoniae	KCCM	40890	+	-	-
115	Staphylococcus aureus	KCCM	40881	+	-	-
116	Staphylococcus epidermidis	KCCM	35494	+	-	-
117	Streptococcus pyogenes	KCCM	40411	+	-	-
118	Streptococcus mitis	KCTC	3556	+	-	-
119	Neisseria meningitidis	ATCC	700532D	+	-	-
120	Bordetella pertussis	ATCC	BAA-589D	+	-	-
121	Legionella pneumophila	KCCM	41783	+	-	-
122	Human genomic DNA (500 ng)	Biochain	D1234275	+	-	-

1.3. XDR_e

N°	Organismo	Cepa N°		XDR ⁺		
				IC	FQ-R	Inj. drug-R
1	Mycobacterium tuberculosis	KMRC	0110-00007	+	-	-
2	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L511P)	ADN plásmido		+	-	-
3	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513K)	ADN plásmido		+	-	-
4	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513L)	ADN plásmido		+	-	-
5	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513P)	ADN plásmido		+	-	-
6	Mycobacterium tuberculosis (rpoB 3 amino acid deletion in 513~516)	ADN plásmido		+	-	-
7	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516V)	ADN plásmido		+	-	-
8	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516Y)	ADN plásmido		+	-	-
9	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522L)	ADN plásmido		+	-	-
10	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522Q)	ADN plásmido		+	-	-
11	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526C)	ADN plásmido		+	-	-
12	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526D)	ADN plásmido		+	-	-

N°	Organismo	Cepa N°		XDR [†]		
				IC	FQ-R	Inj. drug-R
13	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526L)	ADN plásmido		+	-	-
14	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526N)	ADN plásmido		+	-	-
15	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526R)	ADN plásmido		+	-	-
16	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526Y)	ADN plásmido		+	-	-
17	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531L)	ADN plásmido		+	-	-
18	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531W)	ADN plásmido		+	-	-
19	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L533P)	ADN plásmido		+	-	-
20	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACC))	ADN plásmido		+	-	-
21	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACA))	ADN plásmido		+	-	-
22	Mycobacterium tuberculosis (katG S315N)	ADN plásmido		+	-	-
23	Mycobacterium tuberculosis (katG S315I)	ADN plásmido		+	-	-
24	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -15T)	ADN plásmido		+	-	-
25	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -8A)	ADN plásmido		+	-	-
26	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -8C)	ADN plásmido		+	-	-
27	Mycobacterium tuberculosis (gyrA A90V)	ADN plásmido		+	+	-
28	Mycobacterium tuberculosis (gyrA S91P)	ADN plásmido		+	+	-
29	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94A)	ADN plásmido		+	+	-
30	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94G)	ADN plásmido		+	+	-
31	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94H)	ADN plásmido		+	+	-
32	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94N)	ADN plásmido		+	+	-
33	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94Y)	ADN plásmido		+	+	-
34	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1401G)	ADN plásmido		+	-	+
35	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1402T)	ADN plásmido		+	-	+
36	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1484T)	ADN plásmido		+	-	+
37	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -37T)	ADN plásmido		+	-	+
38	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -14T)	ADN plásmido		+	-	+
39	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -10A)	ADN plásmido		+	-	+
40	Mycobacterium abscessus	ATCC	19977D-5	+	-	-
41	Mycobacterium asiaticum	KCTC	9503	+	-	-
42	Mycobacterium avium (Chester)	ATCC	700735	+	-	-
43	Mycobacterium avium subsp. avium	ATCC	25291	+	-	-
44	Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis	ATCC	19698	+	-	-
45	Mycobacterium avium subsp. silvaticum	ATCC	49884	+	-	-
46	Mycobacterium avium subsp. suis	ATCC	19978	+	-	-
47	Mycobacterium celatum	ATCC	51131	+	-	-

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
Médico
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		XDR†		
				IC	FQ-R	Inj. drug-R
48	Mycobacterium chelonae	KCTC	9505	+	-	-
49	Mycobacterium fallax	KCTC	9508	+	-	-
50	Mycobacterium fortuitum subsp. acetamidolyticum	ATCC	43266	+	-	-
51	Mycobacterium fortuitum subsp. fortuitum	KCTC	1122	+	-	-
52	Mycobacterium fortuitum subsp. thermophilum	ATCC	27408	+	-	-
53	Mycobacterium gastri	ATCC	25162	+	-	-
54	Mycobacterium gordonae	KCTC	9513	+	-	-
55	Mycobacterium intracellulare	ATCC	25122	+	-	-
56	Mycobacterium kansasii	KCTC	9515	+	-	-
57	Mycobacterium lentiflavum	ATCC	51988	+	-	-
58	Mycobacterium malmoense	ATCC	29571	+	-	-
59	Mycobacterium marinum	ATCC	BAA535D-5	+	-	-
60	Mycobacterium massiliense	KCTC	19086	+	-	-
61	Mycobacterium moriokaense	KCTC	9516	+	-	-
62	Mycobacterium mucogenicum	KCTC	19088	+	-	-
63	Mycobacterium neoaurum	KCTC	19096	+	-	-
64	Mycobacterium nonchromogenicum	ATCC	25265	+	-	-
65	Mycobacterium phlei	KCTC	9087	+	-	-
66	Mycobacterium porcinum	KCTC	9517	+	-	-
67	Mycobacterium seoulense	KCTC	19146	+	-	-
68	Mycobacterium simiae	ATCC	BAA-1478	+	-	-
69	Mycobacterium smegmatis	KCTC	9108	+	-	-
70	Mycobacterium szulgai	KCTC	9520	+	-	-
71	Mycobacterium terrae	KCTC	9614	+	-	-
72	Mycobacterium triviale	ATCC	23292	+	-	-
73	Mycobacterium ulcerans	ATCC	33728	+	-	-
74	Mycobacterium vaccae	KCTC	19087	+	-	-
75	Arthrobacter oxydans	KCTC	3383	+	-	-
76	Arthrobacter woluwensis	KCTC	9905	+	-	-
77	Corynebacterium amycolatum	KCTC	3432	+	-	-
78	Corynebacterium aquaticum	KCTC	9098	+	-	-
79	Corynebacterium diphtheriae	KCTC	3075	+	-	-
80	Corynebacterium durum	KCTC	19318	+	-	-
81	Corynebacterium flavescens	KCTC	3414	+	-	-
82	Corynebacterium genitalium	ATCC	33030	+	-	-
83	Corynebacterium glutamicum	KCTC	1854	+	-	-
84	Corynebacterium imitans	ATCC	700354	+	-	-
85	Corynebacterium jeikeium	KCCM	41661	+	-	-
86	Corynebacterium pseudodiphtheriticum	ATCC	10700	+	-	-
87	Corynebacterium striatum	ATCC	43751	+	-	-
88	Corynebacterium tuberculostearicum	ATCC	35692	+	-	-
89	Corynebacterium ulcerans	ATCC	51799	+	-	-
90	Corynebacterium xerosis	KCTC	3435	+	-	-

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°	XDR†			
			IC	FQ-R	Inj. drug-R	
91	Dietzia sp.	KCTC	19232	+	-	-
92	Gordonia bronchialis	KCTC	3076	+	-	-
93	Gordonia polyisoprenivorans	ATCC	BAA-14	+	-	-
94	Gordonia rubripertincta	ATCC	27864	+	-	-
95	Gordonia sputi	KCTC	3436	+	-	-
96	Nocardia abscessus	ATCC	23824	+	-	-
97	Nocardia asteroides	KCTC	9956	+	-	-
98	Nocardia blacklockiae	ATCC	BAA-1635	+	-	-
99	Nocardia brasiliensis	KCTC	9136	+	-	-
100	Nocardia farcinica	KCTC	9958	+	-	-
101	Nocardia nova	ATCC	33727	+	-	-
102	Nocardia pseudobrasiliensis	ATCC	51512	+	-	-
103	Nocardia transvalensis	ATCC	29982	+	-	-
104	Nocardia wallacei	ATCC	BAA-1636	+	-	-
105	Rhodococcus equi	KCTC	1298	+	-	-
106	Candida albicans	ATCC	7965	+	-	-
107	Escherichia coli	KCCM	11591	+	-	-
108	Enterococcus faecalis	ATCC	51299	+	-	-
109	Enterococcus faecium	ATCC	51559	+	-	-
110	Haemophilus ducreyi	ATCC	700724D-5	+	-	-
111	Pseudomonas aeruginosa	KCTC	47085D	+	-	-
112	Rothia dentocariosa	KCTC	19319	+	-	-
113	Streptococcus pneumoniae	KCTC	BAA-255D	+	-	-
114	Klebsiella pneumoniae	KCCM	40890	+	-	-
115	Staphylococcus aureus	KCCM	40881	+	-	-
116	Staphylococcus epidermidis	KCCM	35494	+	-	-
117	Streptococcus pyogenes	KCCM	40411	+	-	-
118	Streptococcus mitis	KCTC	3556	+	-	-
119	Neisseria meningitidis	ATCC	700532D	+	-	-
120	Bordetella pertussis	ATCC	BAA-589D	+	-	-
121	Legionella pneumophila	KCCM	41783	+	-	-
122	Human genomic DNA (500 ng)	Biochain	D1234275	+	-	-

※ ATCC: American Type Culture Collection

KCTC: Colección Coreana para Cultura Tipográfica

KBPV: Banco de Corea para Virus Patógenos

KCCM: Centro de Cultura Coreana de Microorganismos

† Las pruebas de especificidad se repitieron 3 veces.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Sensibilidad

La sensibilidad se define como la concentración más baja de microorganismos que se puede detectar de manera consistente ($\geq 95\%$ de resultados positivos entre todas las muestras analizadas).

La sensibilidad del Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection se determinó utilizando ADN plasmídico (de 10^4 a 10^0 copias / reacción). El límite de detección para el Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection fue de 20 copias / reacción.

El Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection se dirige a los genes mpb64 e IS6110 en cepas de MTB. En presencia de múltiples copias de la secuencia IS6110 en cepas de MTB, se mejoró la sensibilidad de las pruebas de PCR. El analito MTB de Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection detectó hasta 10 copias / reacción cuando hay múltiples copias de la secuencia IS6110 presentes en la cepa MTB.

3. Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad de Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection entre sitios, lotes de productos, experimentadores y puntos de tiempo utilizando 3 muestras de concentración de cada analito.

Las tasas positivas por concentración cumplieron los criterios de detección (100% para muestras positivas moderadas, $\geq 95\%$ para muestras positivas bajas y $< 95\%$ o no detectadas para muestras negativas altas).

Los resultados fueron satisfechos con el conjunto de Criterios, lo que confirma el rendimiento reproducible de Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se realizó utilizando sustancias interferentes compuestas por 8 sustancias con el fin de confirmar el rendimiento de la detección Allplex™ MTB / MDR / XDRe en presencia de posibles sustancias interferentes. No hubo ningún efecto sobre el resultado al agregar las sustancias: detección no específica o inhibición de la amplificación del objetivo. Según los resultados, 8 sustancias interferentes no tuvieron ningún efecto en los resultados de la detección Allplex™ MTB / MDR / XDRe.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°.	Sustancias interferentes	Concentración
1	Mucina (glándula submaxilar bovina, tipo I-S)	60 µg/ml
2	Mupirocina (antibiótico, ungüento nasal)	6.6 mg/ml
3	Tobramicina (antibacteriana, sistémica)	4.0 µg/ml
4	Oximetazolina (aerosol nasal Afrin)	15% (v/v)
5	Zanamivir (fármaco anti-viral-Relenza)	3.3 mg/ml
6	Oseltamivir (fármaco antiviral-Tamiflu)	25 mg/ml
7	Isoniazida	50 µg/ml
8	Rifampicina	25 µg/ml

5. Estudio clínico

Se analizaron un total de 108 muestras clínicas con el ensayo de referencia y el Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection.

La tasa de concordancia de MTB, RIF-R, INH-R1, INH-R2, FQ-R, Inj. droga-R1, Inj. fármaco-R2 e Inj. fármaco-R3 debe ser superior al 95%. Esta prueba de comparación muestra una tasa de concordancia del 100% en muestras clínicas entre el Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection y el ensayo de referencia. Por lo tanto, se confirma que la calidad del Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection es válida.

Analito	Sensibilidad (en comparación con el ensayo de referencia)			Especificidad (en comparación con el ensayo de referencia)		
	TP/ (TP+FN)	% ^{a)}	95% CI ^{d)}	TN/ (TN+FP)	% ^{b)}	95% CI ^{d)}
MTB	96/96	100	97.3~100.0	12/12	100	78.6~100.0
RIF-R	80/80	100	96.7~100.0	16/16	100	83.6~100.0
INH-R1	59/59	100	95.4~100.0	37/37	100	92.7~100.0
INH-R2	29/29	100	90.7~100.0	67/67	100	96.0~100.0
FQ-R	40/40	100	93.2~100.0	56/56	100	95.1~100.0
Inj. drug-R1	7/7	100	65.7~100.0	89/89	100	97.3~100.0
Inj. drug-R2	41/41	100	93.4~100.0	55/55	100	95.1~100.0
Inj. drug-R3	0/0	-	-	96/96	100	100

a) Sensibilidad: $100 \times TP / (TP + FN)$

b) Especificidad: $100 \times TN / (FP + TN)$

c) Se calcularon los intervalos de confianza del 95% bilaterales.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REFERENCIAS

1. Chun, J. Y., Kim, K. J., Hwang, I. T., Kim, Y. J., Lee, D. H., and Lee, I. K. [Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene] *Nucleic Acids Res.* (2007) 35: e40
2. Da Silva, P. E. A. and Palomino, J. C. [Molecular basis and mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: classical and new drugs] *J. Antimicrob. Chemother.* (2011) 66: 1417-1430
3. Georghiou, S. B., Magana, M., Garfein, R. S., Catanzaro, D. G., Catanzaro, A., and Rodwell, T. C. [Evaluation of genetic mutations associated with *Mycobacterium tuberculosis* resistance to amikacin, kanamycin and capreomycin: a systematic review] *PLoS ONE* (2012) 7(3): e33275
4. Gikalo, M. B., Nosoca, E. Y., Krylova, L. Y., Moroz, A. M. [The role of *eis* mutations in the development of kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from the Moscow region] *J. Antimicrob. Chemother.* (2012) 67(9): 2017-2109
5. Johnson, R., Streicher, E. M., Louw, G. E., Warren, R. M., van Helden, P. D., and Victor, T. C. [Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*] *Curr. Issues Mol. Biol.* (2006) 8(2): 97-111
6. Maus, C. E, Plikaytis, B. B., and Shinnick, T. M. [Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in *Mycobacterium tuberculosis*] *Antimicrob. Agents Chemother.* (2005) 49(8): 3192-3197
7. Medappa, N. and Srivastava, V. K. [What is new in the diagnosis of tuberculosis?] *ICMR Bulletin* (2002) 32
8. Merza, M. and Masjedi, M. R. [Extensively drug resistant tuberculosis (XDR) and extremely drug resistant tuberculosis (XXDR): risk factors and molecular perspectives] *Iranian J. Clin. Infect. Dis.* (2010) 5(3): 174-188
9. Migliori, G. B., Dheda, K., Centis, R., Mwaba, P., Bates, M., O'Grady, J., Hoelscher, M., and Zumla, A. [Review of multidrug-resistant and extensively drug-resistant TB: global perspectives with a focus on sub-Saharan Africa] *Trop. Med. Int. Health* (2010) 15(9): 1052-1066
10. Qi, Y. C., Ma, M. J., Li, D. J., Chen, M. J., Lu, Q. B., Li, X. J., Li, J. L., Liu, W., and Cao, W. C. [Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in multi-ethnic region, Xinjiang Uygur Autonomous region, China] *PLoS ONE* (2012) 7(2): e32103
11. Santos, L. C. [Review: the molecular basis of resistance in *Mycobacterium tuberculosis*] *J. Med. Microbiol.* (2012) 2(1): 24-36
12. Yuan, X., Zhang, T., Kawakami, K., Zhu, J., Li, H., Lei, J., and Tu, S. [Molecular characterization of multidrug and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in Jiangxi, China] *J. Clin. Microbiol.* (2012) 50(7): 2403-2413
13. World Health Organization. [Global tuberculosis control] *WHO Report* (2011) WHO/HTM/TB/2011.16







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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

14. World Health Organization. [Towards universal access to diagnosis and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis by 2015] WHO Progress Report (2011) WHO/HTM/TB/2011.3

SÍMBOLOS

Leyenda de los símbolos utilizados en el manual y las etiquetas

Símbolo	Explicación
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
	Utilizar por fecha
	Límite superior de temperatura
PRIMER	Mezcla de oligonucleótidos para amplificación y detección
PREMIX	PCR Master Mix o Detection Mix
WATER	Agua libre de ARNasa
DNA ES	Solución de extracción de ADN
CONTROL +	Control positivo (PC)
CONTROL IC	Control interno (IC)
CONTROL W	Control de tipo salvaje (WTC)
	Fabricante
	Fecha de manufactura
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea.
	Consultar instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> pruebas

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN SOBRE PEDIDOS

Cat. No.	Producto	Tamaño
-----------------	-----------------	---------------

Allplex™ TB series

TB10173Y	Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection	50 rxns
TB10174X	Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection	100 rxns*
TB9400Y	Allplex™ MTB/MDRe Detection	50 rxns
TB9400X	Allplex™ MTB/MDRe Detection	100 rxns*
TB9500Y	Allplex™ MTB/XDRe Detection	50 rxns
TB9500X	Allplex™ MTB/XDRe Detection	100 rxns*

* Solo para uso con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet

Anyplex™ II TB series

TB7500Y	Anyplex™ II MTB/MDR/XDR Detection	50 rxns
TB7301Y	Anyplex™ II MTB/MDR Detection	100 rxns*
TB7302Y	Anyplex™ II MTB/XDR Detection	50 rxns

Anyplex™ TB series

TB7200X	Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection (V2.0)	100 rxns
TB7202Y	Anyplex™ MTB/NTMe Real-time Detection	50 rxns
TB7202X	Anyplex™ MTB/NTMe Real-time Detection	100 rxns*
TB7203Y	Anyplex™ MTB/NTM Combi	50 rxns
TB7203X	Anyplex™ MTB/NTM Combi	100 rxns*

* Solo para uso con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet

Seeplex® TB series

TB2110Y	Seeplex® MTB Nested ACE Detection (V2.3)	50 rxns
---------	--	---------

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

Sistemas de extracción automatizados

65415-02	Microlab NIMBUS IVD	EA
173000-075	Microlab STARlet IVD	EA
65415-03	Seegene NIMBUS	EA
67930-03	Seegene STARlet	EA
744300.4.UC384	STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	384T / 1box

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™ MTB/MDR /XDRe Detection

(Cat. No. TB10174X)


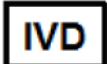
Sistema de PCR multiplex en tiempo real para la detección de Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea (isoniazida y rifampicina) y fármacos antituberculosos de segunda línea (fluoroquinolonas y fármacos inyectables) basado en análisis de temperatura de fusión.



Para usar con:



1. Microlab NIMBUS IVD and Microlab STARlet IVD
2. Seegene NIMBUS and Seegene STARlet

Para usar con:

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)

  For in vitro diagnostic use only

 RP9801X  100

 RP10179Z  25



Seegene Inc.,

Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul, Republic of Korea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Germany

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

TABLA DE CONTENIDOS

AVISOS	3
USO PREVISTO	5
PRINCIPIOS Y RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO	5
INFORMACIÓN DEL CONTEXTO	7
REACTIVOS	10
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN	11
MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS	11
PROTOCOL	12
CONFIGURACIÓN DEL INSTRUMENTO DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	19
RESULTADOS	39
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	46
DESEMPEÑO	48
REFERENCIAS	63
SÍMBOLOS	64
INFORMACIÓN SOBRE PEDIDOS	65

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

AVISOS

- Sólo para uso diagnóstico in vitro.
- La confiabilidad de los resultados depende de una adecuada recolección de muestras, almacenamiento, transporte y procedimiento de procesamiento.
- **Este producto es solo para uso con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet como máximo 5 ciclos separados.**
- **Esta prueba ha sido validada para los siguientes tipos de muestras: esputo, cultivo y lavado bronquial. Esta prueba no ha sido validada para ningún otro tipo de muestras.**
- **Almacene las muestras de ADN a ≤ -20 °C hasta su uso y manténgalas en hielo durante el uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede disminuir si las muestras se congelan / descongelan repetidamente o se almacenan durante un período de tiempo más largo.
- **El exclusivo tubo de PCR [EU 0.1 mL, tira de 8 tubos de pared delgada (Cat. No. B77009) y EU 8-Óptica acoplable única (Cat. No. B79501); BIOplásticos] deben utilizarse para las reacciones de PCR de este producto.**
- **La reacción de control de tipo salvaje siempre debe realizarse en cada ejecución de prueba.**
- El flujo de trabajo en el laboratorio debe proceder de manera unidireccional.
- Use guantes desechables y cámbielos antes de ingresar a diferentes áreas. Cambie los guantes inmediatamente si están contaminados o trátelos con reactivo de descontaminación de ADN.
- Los suministros y equipos deben estar dedicados a las áreas de trabajo y no deben trasladarse de un área a otra.
- No pipetear por la boca.
- No coma, beba ni fume en áreas de trabajo de laboratorio. Use guantes desechables sin polvo, batas de laboratorio y protecciones para los ojos al manipular muestras y reactivos. Lávese bien las manos después de manipular muestras y reactivos de prueba.
- Evite la contaminación de los reactivos al retirar alícuotas de los tubos de reactivos. Se recomienda el uso de Tips de pipeta desechables, esterilizadas.
- No agrupe reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
- No utilice el producto después de su fecha de caducidad.
- No reutilice todos los artículos desechables.
- Use tubos con tapón de rosca y evite cualquier posible salpicadura o contaminación cruzada de las muestras durante la preparación.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Tenga cuidado de no contaminar los reactivos con ácidos nucleicos extraídos, productos de PCR y control positivo. Para evitar la contaminación de los reactivos, se recomienda el uso de filtros-tips.
- Use áreas de trabajo separadas y segregadas para cada trabajo.
- Para evitar la contaminación de las áreas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos o tiras de reacción de PCR solo en las áreas de trabajo designadas después de la amplificación.
- Almacene materiales positivos separados de los reactivos del kit.
- Los procedimientos de seguridad de laboratorio (consulte Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos y documentos CLSI) que deben tomarse al manipular muestras. Limpie y desinfecte a fondo todas las superficies de trabajo con hipoclorito de sodio al 0.5% (en agua desionizada o destilada). Los componentes del producto (residuos del producto, embalaje) pueden considerarse residuos de laboratorio. Deseche los reactivos y desechos no utilizados de acuerdo con las regulaciones federales, estatales y locales aplicables.
- La fecha de caducidad es de 12 meses a partir de la fecha de fabricación a ≤ -20 °C. Consulte la etiqueta para la fecha de caducidad final.
- Seegene NIMBUS y Seegene STARlet son el mismo equipo que Microlab NIMBUS IVD y Microlab STARlet IVD, aunque el fabricante es diferente. Como no hay cambios de hardware en el dispositivo, los resultados de la prueba son los mismos.
- La marca del "CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD" se cambia a "CFX96™ Dx System". Como no hay cambios de hardware en los sistemas, se espera obtener los mismos resultados de ambos sistemas.
- "CFX Manager™ Dx Software v3.1" es una versión de actualización de "CFX Manager™ Software-IVD v1.6". El software actualizado incluye mejoras en el menú "Ejecutar". Estas mejoras no afectan los resultados del análisis de datos; por lo tanto, los resultados serán los mismo.
- Este kit está destinado a ayudar en el diagnóstico diferencial de infecciones por patógenos diana; Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a los fármacos antituberculosos de primera línea (isoniazida y rifampicina) y a los fármacos antituberculosos de segunda línea (fluoroquinolonas y fármacos inyectables).

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

USO PREVISTO

Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection es una prueba cualitativa in vitro para la detección única o múltiple de Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a los fármacos antituberculosos de primera línea (isoniazida y rifampicina) y a los fármacos antituberculosos de segunda línea (fluoroquinolonas y fármacos inyectables) de muestras de esputo, cultivo o lavado bronquial de pacientes sintomáticos. Cubre 7 mutaciones que causan resistencia a la isoniazida en el gen katG y la región promotora inhA, 18 mutaciones que causan resistencia a la rifampicina en el gen rpoB, 7 mutaciones que causan resistencia a las fluoroquinolonas en el gen gyrA y 6 mutaciones que causan resistencia a fármacos inyectables en el gen rrs y el promotor eis región.

PRINCIPIOS Y RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO

1. Principios

Seegene posee dos tecnologías sobresalientes relacionadas con la PCR: la tecnología de oligonucleótidos de cebado dual (DPO™) y la tecnología TOCE™. DPO™ es una herramienta fundamental para bloquear la extensión de plantillas cebadas no específicamente, lo que permite el diseño y desarrollo de ensayos con una especificidad excepcionalmente alta. La fuerza y la utilidad de la tecnología DPO™ se pueden incorporar con éxito en varios sistemas de diagnóstico molecular, como ensayos moleculares multiplexados y ensayos para la detección de mutaciones puntuales. TOCE™ es una tecnología novedosa para lectura en tiempo real basada en análisis de temperatura de fusión. Hasta ahora, el análisis de la temperatura de fusión se ha visto limitado por varias limitaciones inherentes, a saber, el diseño restringido de la sonda, la incapacidad de multiplexar de manera extensa y eficiente y la alta sensibilidad de las temperaturas de fusión debido a la variación de secuencia en el sitio de la sonda. La tecnología TOCE™ supera estas limitaciones proporcionando capacidades de multiplexación mejoradas, mejorando la flexibilidad del diseño de la sonda, proporcionando una lectura que es independiente de la variación de la secuencia objetivo y la compatibilidad entre plataformas. La combinación de las tecnologías DPO™ y TOCE™ permite la detección simultánea en tiempo real de múltiples mutaciones puntuales con alta especificidad.

Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection es un ensayo de PCR multiplex en tiempo real que permite la amplificación y detección simultáneas de secuencias objetivo de Mycobacterium tuberculosis (MTB), 7 mutaciones que causan resistencia a isoniazida (INH) [katG S315I (ATC), S315N (AAC), S315T (ACC), S315T (ACA), promotor inhA -15 (T), -8 (A), -8 (C)], 18 mutaciones que causan resistencia a la rifampicina (RIF) [rpoB L511P (CCG), Q513K (AAA), Q513L (CTA),

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
ABODERADA
BioSystems S.A.

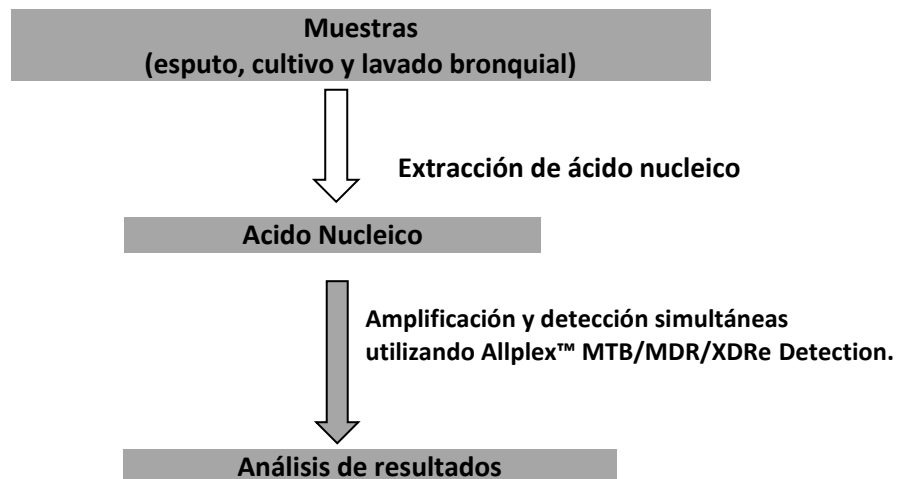
Q513P (CCA), deleción de 3 aminoácidos en 513 ~ 516, D516V (GTC), D516Y (TAC), S522L (TTG), S522Q (CAG), H526C (TGC), H526D (GAC), H526L (CTC), H526N (AAC), H526R (CGC), H526Y (TAC), S531L (TTG), S531W (TGG), L533P (CCG)], 7 resistencia a fluoroquinolonas (FQ) que causa mutaciones [gyrA A90V (GTG), S91P (CCG), D94A (GCC), D94G (GGC), D94H (CAC), D94N (AAC), D94Y (TAC)], 6 mutaciones que causan resistencia a fármacos inyectables [rrs 1401 (G), 1402 (T), 1484 (T), el promotor eis -37 (T), -14 (T), -10 (A)] y Control interno (IC).

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection incluye control interno. El control interno se agrega para monitorear las muestras procesadas que contienen sustancias que pueden interferir con la amplificación por PCR.

La especificidad de los oligonucleótidos dirigidos a mutaciones en Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection se puede confirmar mediante el control de tipo salvaje (WTC). El control de tipo salvaje está diseñado para exhibir el mismo patrón de resultados que el de la muestra de M. tuberculosis susceptible a fármacos. La reacción de control de tipo salvaje siempre debe realizarse para cada ejecución de prueba, y el resultado de resistencia a los medicamentos de muestras desconocidas se analiza en función del resultado del control de tipo salvaje.

El sistema uracil-ADN glicosilasa (UDG) -dUTP se emplea en Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection. El sistema UDG-dUTP se usa comúnmente cuando se realiza PCR para eliminar el arrastre de amplicón, ya que la UDG escinde los residuos de uracilo del ADN al escindir el enlace N-glicosílico.

2. Descripción del procedimiento



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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1. Tuberculosis

La tuberculosis es una enfermedad bacteriana infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis* y se sabe que se propaga por el aire. Cuando las personas infectadas tosen, escupen o hablan, los organismos de *M. tuberculosis* se dispersan en el aire. Solo una pequeña cantidad de *M. tuberculosis* es suficiente para causar una infección cuando se inhala. Sin embargo, no todas las personas infectadas con *M. tuberculosis* se enfermarán; el sistema inmunológico mata o protege a los gérmenes donde pueden permanecer inactivos durante años.

La incapacidad del sistema inmunológico para controlar la infección por *M. tuberculosis* conduce a una enfermedad activa.

La tuberculosis y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) forman una combinación letal. El SIDA debilita el sistema inmunológico, y una persona que es positiva al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) e infectada con *M. tuberculosis* tiene muchas más probabilidades de enfermarse de tuberculosis que alguien que es VIH negativo e infectado con *M. tuberculosis*.

2. Tuberculosis farmacorresistente

Cuando se identifica a una persona con tuberculosis infecciosa, se debe iniciar un tratamiento con medicamentos antituberculosos. Los medicamentos contra la tuberculosis más comunes (medicamentos de primera línea) son isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol. En todos los países encuestados se han documentado cepas resistentes a un solo fármaco; es más, han surgido cepas de *M. tuberculosis* resistentes a todos los principales fármacos antituberculosos. Una forma particularmente peligrosa de tuberculosis farmacorresistente es la tuberculosis multirresistente (MDR-TB), que se define como la enfermedad causada por *M. tuberculosis* resistente a al menos dos de los fármacos antituberculosos más eficaces y comúnmente utilizados, la isoniazida y Rifampicina. La MDR-TB está presente en prácticamente todos los países encuestados por la Organización Mundial de la Salud (OMS). La tuberculosis extensamente resistente a medicamentos (XDR-TB), un tipo relativamente raro de MDR-TB, es resistente a isoniazida y rifampicina, además de resistente a cualquier fluoroquinolona y al menos a uno de los tres medicamentos inyectables de segunda línea (amikacina, kanamicina y capreomicina). En julio de 2010, 58 países y territorios habían notificado al menos un caso de XDR-TB.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Diagnóstico de tuberculosis y tuberculosis farmacorresistente

El diagnóstico rápido y preciso de los pacientes sintomáticos es la piedra angular de las estrategias globales para el control de la tuberculosis. Actualmente, la tuberculosis activa se diagnostica mediante una evaluación total de los síntomas, los signos clínicos y los resultados de las pruebas. Los métodos de prueba de diagnóstico para la tuberculosis incluyen la radiografía de tórax (rayos X), microscopía (tinción de bacilos ácido-resistentes (AFB)), cultivo y diagnóstico molecular. Junto con el cultivo como estándar de oro, los métodos de diagnóstico molecular basados en PCR se utilizan ampliamente para el diagnóstico precoz de la tuberculosis.

La detección de la farmacorresistencia antes del inicio de una quimioterapia inadecuada rescata la morbilidad, la mortalidad, los costos económicos y el tratamiento innecesario con medicamentos ineficaces. Los métodos de rutina para las pruebas de susceptibilidad a los medicamentos (DST), estándar de oro para el diagnóstico de la tuberculosis farmacorresistente, son lentos y rara vez están disponibles en entornos con recursos limitados. El hecho de que a menudo se necesiten varias semanas para producir un resultado retrasa la institución de un tratamiento eficaz, por lo que aumenta el riesgo de transmisión de M. tuberculosis farmacorresistente a los contactos. Además, los pacientes pueden recibir una terapia inapropiada que amplifica la resistencia y compromete aún más la posibilidad de un resultado exitoso del tratamiento. Por lo tanto, un diagnóstico preciso, simple y rápido es necesario para un cribado eficaz y proporciona una asistencia clínica útil para el tratamiento adecuado de la lucha mundial contra la tuberculosis.

Los avances recientes en la DST fenotípica incluyen el uso de indicadores de crecimiento de micobacterias y ensayos basados en fagos. Aunque estos métodos pueden informar la resistencia fenotípica en 2 a 10 días, el cultivo de M. tuberculosis viable representa un riesgo para la salud del personal de laboratorio y, por lo tanto, requiere altos niveles de bioseguridad. Para superar estas limitaciones y mejorar la velocidad de detección de la resistencia a los fármacos, se han desarrollado numerosos métodos basados en PCR.

Sin embargo, la gran cantidad de polimorfismos de un solo nucleótido no sinónimos (nsSNP) que confieren resistencia sigue siendo un desafío importante para el desarrollo exitoso de métodos de prueba genotípicos. Además, muchos de estos métodos basados en PCR se ven obstaculizados por la necesidad de procesamiento posterior para permitir la detección de nsSNP dentro del dominio amplificado por PCR (p. Ej., Hibridación con oligonucleótidos inmovilizados, micromatrices, hibridación dot-blot, cromatografía líquida de alto rendimiento desnaturizante y secuenciación de ADN).

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Las mutaciones diana de Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection se resumen en la siguiente tabla.

Mutaciones objetivo de Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection					
Resistencia a droga	Gen relacionado	Mutaciones objetivo			
Resistencia a la isoniazida (INH-R)	katG	S315I (AGC→ATC)	S315N (AGC→AAC)	S315T (AGC→ACC)	S315T (AGC→ACA)
	Promotor	-15	-8	-8	
	inhA	(C→T)	(T→A)	(T→C)	
Resistencia a la rifampicina ¹ (RIF-R)	rpoB	L511P (CTG→CCG)	Q513K (CAA→AAA)	Q513L (CAA→CTA)	Q513P (CAA→CCA)
		3 a.a. supresión en 513 ~ 516	D516V (GAC→GTC)	D516Y (GAC→TAC)	S522L (TCG→TTG)
		S522Q (TCG→CAG)	H526C (CAC→TGC)	H526D (CAC→GAC)	H526L (CAC→CTC)
		H526N (CAC→AAC)	H526R (CAC→CGC)	H526Y (CAC→TAC)	S531L (TCG→TTG)
		S531W (TCG→TGG)	L533P (CTG→CCG)		
Resistencia a fluoroquinolonas (FQ-R)	gyrA	A90V (GCG→GTG)	S91P (TCG→CCG)	D94A (GAC→GCC)	D94G (GAC→GGC)
		D94H (GAC→CAC)	D94N (GAC→AAC)	D94Y (GAC→TAC)	
Resistencia a fármacos inyectables (Inj. Droga-R)	rrs	1401 (A→G)	1402 (C→T)	1484 (G→T)	
	Promotor eis	-37 (G→T)	-14 (C→T)	-10 (G→A)	

¹ También se detectan nueve mutaciones adicionales con la misma mutación en la misma base (subrayadas): Q513N (CAA→AAT), D516F (GAC→TTC), D516V (GAC→GTG), H526F (CAC→TTC), H526G (CAC→GGC), H526L (CAC→CTG), H526L (CAC→CTT), H526S (CAC→AGC), and H526T (CAC→ACC).


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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 100 reacciones.

Información de pedido (Cat. No. TB10174X)

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	MTBe TOM	500 µL	Mezcla de oligo TOCE (TOM): - Reactivo de amplificación y detección
PRIMER	MDRe TOM	500 µL	Mezcla de oligo TOCE (TOM): - Reactivo de amplificación y detección
PRIMER	XDRe TOM	500 µL	Mezcla de oligo TOCE (TOM): - Reactivo de amplificación y detección
PREMIX	EM1	500 µL X 3	- ADN polimerasa - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTP
CONTROL +	MTB/DRe PC	300 µL	Control positivo (PC): - Mezcla de clones de patógenos e IC
CONTROL IC	MTB/DRe IC	1,000 µL	Control interno exógeno (CI) para Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection
CONTROL W	MTB/DRe WTC	300 µL	Control de tipo salvaje (WTC): - Mezcla de clones de MTB de tipo salvaje objetivos y clones de IC
WATER	Agua libre de ARNasa	1000 µL X 3	Calidad ultrapura, grado PCR
DNA ES	Solución de extracción de ADN	10 mL X 2	Reactivo para extracción de ADN bacteriano
	Manual de usuario		

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes del Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection deben almacenarse a $\leq -20^{\circ}$ C. Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El rendimiento de los componentes del kit no se ve afectado por hasta 5 congelaciones/descongelaciones. Si los reactivos deben usarse solo de manera intermitente, deben almacenarse en alícuotas.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

- NALC-NaOH (0,5% NALC, 2% NaOH y 1,47% citrato trisódico) o 4% NaOH (1 N NaOH)
- Solución 1X PBS
- Bucle o aguja de plástico desechable
- Guantes desechables sin polvo (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubos de microcentrifuga de 1,5 ml
- Máquina de hielo
- Centrífuga de escritorio
- Mezclador Vortex
- Bloque de calor
- Banco limpio
- CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- EU 0.1 mL, Thin-wall 8-tube Strip, white (Cat. No. B77009; BIOplastics)
- EU 8-single attachable optical wide indented cap-strip (Cat. No. B79501; BIOplastics)

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1. Recolección, almacenamiento y transporte de muestras.

Nota: Todas las muestras deben tratarse como material potencialmente infeccioso. Solo se permiten aquellos materiales de muestra, los cuales son recolectados, almacenados y transportados atendiendo estrictamente a las siguientes reglas e instrucciones.

Nota: Para garantizar una alta calidad de la muestra, las muestras deben transportarse lo más rápido posible y a las temperaturas indicadas.

A. Colección de muestras**Espuito**

- Dar instrucciones claras a los pacientes al recolectar muestras de esputo. Los pacientes deben recolectar muestras al aire libre o lejos de otras personas. Los pacientes no deben recolectar muestras en espacios reducidos como inodoros.
- Enjuague la boca con agua antes de recolectar el esputo. Los pacientes deben toser profundamente para expectorar el esputo directamente en el recipiente.
- Una muestra de esputo debe tener un volumen de 3 a 5 ml.

Cultivo sólido (Ogawa)

- Las muestras pueden analizarse tan pronto como el crecimiento sea visible y durante los siguientes 60 días de incubación.
- La colonia se puede recolectar con un bucle o aguja de plástico desechable. Evite recolectar cualquiera de los medios Ogawa junto con la celda.

Cultivo líquido (MGIT)

- Los tubos indicadores del crecimiento de micobacterias (MGIT) se examinan a diario con una lámpara UV para detectar una fluorescencia naranja brillante en la parte inferior del tubo reflejada en el menisco. Con la señal positiva de fluorescencia, pipetee 0,5 mL de muestra del fondo del tubo.

Lavado bronquial

- El médico debe recoger asépticamente el lavado bronquial en un recipiente estéril mediante técnicas de aspiración o procedimientos quirúrgicos.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

Muestra	Almacenamiento y transporte		Nota
	Temp.	Duración*	
Esputo	2~8°C	5 días	- El rendimiento puede verse afectado por el almacenamiento prolongado de muestras. - Las muestras también deben cumplir con las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno.
Cultivo sólido (Ogawa)			
Cultivo líquido (MGIT)			
Lavado bronquial			

* Duración: El período de tiempo desde la recolección de la muestra hasta la prueba final (incluye el transporte y el almacenamiento de las muestras antes de la prueba).

2. Pretratamiento de muestras

Esputo

1) Para extracción manual de ácidos nucleicos

- Agregue el mismo volumen de NALC-NaOH (0.5% NALC, 2% NaOH y 1.47% citrato trisódico) a la muestra en el recipiente de esputo y agite en vórtex durante 1 minuto.

Nota: Se puede utilizar NaOH al 4% (NaOH 1 N) en lugar de NALC-NaOH.

- Incube durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Transferir 1,5 mL a un nuevo tubo estéril y centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Deseche el sobrenadante, agregue 1 mL de solución de PBS 1X y mezcle bien.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos y desechar el sobrenadante con una pipeta.
- Agregue 1 mL de solución 1X PBS y mezcle bien.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos y desechar el sobrenadante con una pipeta.

2) Para el sistema automatizado de extracción de ácidos nucleicos (TB10174X)

- Agregue el mismo volumen de NALC-NaOH (0.5% NALC, 2% NaOH y 1.47% citrato trisódico) a la muestra en el recipiente de esputo y agite en vórtex durante 1 minuto.
- Incube durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Transferir 1 mL a un nuevo tubo estéril y centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Deseche el sobrenadante, agregue 300 µL de tampón de lisis en el kit de cartucho universal al sedimento y mezcle bien.
- Cierre la tapa del tubo con un cierre de tapa y hierva a 100 ° C durante 5 minutos en el bloque de calor.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Lavado bronquial

- Sin añadir NALC-NaOH, centrifugue 1,5 ml de muestra a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Deseche el sobrenadante, agregue 1 mL de solución de PBS 1X y mezcle bien.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos y desechar el sobrenadante con una pipeta.

3. Extracción de ácidos nucleicos

A. Control interno

Nota: El IC, incluido en el kit, permite al usuario no solo confirmar el procedimiento de extracción de ácido nucleico, sino también identificar cualquier inhibición de la PCR.

- Se deben agregar 10 µL de MTB / DRe IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico.
- El CI se puede agregar directamente a la solución de extracción de ADN o a la mezcla de la muestra y la solución de extracción de ADN.
- **(TB10174X)** Cuando se utiliza el sistema de extracción automática de ácidos nucleicos MTB / DRe, el tubo IC debe cargarse en Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet antes de la extracción de ácidos nucleicos.

B. Kits de extracción manual de ácidos nucleicos

Nota: La solución de extracción de ADN se incluye en el Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection kit.

Todas las muestras excepto las muestras de cultivo

- (Opcional) Agregue 1 mL de agua esterilizada al sedimento preparado, centrifugue a 15,000 x g (13,000 rpm) durante 5 minutos y deseche el sobrenadante con una pipeta.
- Añada 100 µL de solución de extracción de ADN al sedimento y agite en el vórtex durante 30 segundos.
- Bloquee la tapa del tubo con un cierre de tapa y hierva a 100 ° C durante 20 minutos en el bloque de calor.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Utilice 5 µL del sobrenadante como plantilla de PCR.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Cultivo sólido (Ogawa)

- Suspense una colonia en 200 µL de solución de extracción de ADN en un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml.
- Agite en el vórtex durante 30 segundos.
- Cierre la tapa del tubo con un cierre de tapa y hierva a 100 ° C durante 20 minutos en un bloque de calor.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Utilice 5 µL del sobrenadante como plantilla de PCR.

Cultivo líquido (MGIT)

- Transferir 0.5 mL del cultivo en la parte inferior a un tubo de microcentrifuga de 1.5 mL.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Deseche el sobrenadante y agregue 200 µL de solución de extracción de ADN al sedimento.
- Agite en el vórtex durante 30 segundos.
- Cierre la tapa del tubo con un cierre de tapa y hierva a 100 ° C durante 20 minutos en un bloque de calor.
- Centrifugar a 15.000 x g (13.000 rpm) durante 5 minutos.
- Utilice 5 µL del sobrenadante como plantilla de PCR.
-

C. Sistema automatizado de extracción de ácidos nucleicos

Nota: Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet se han validado solo para esputo.

C-1. Microlab NIMBUS IVD

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de **Microlab NIMBUS IVD**.

Kit de extracción	Fabricante	Cat. No.	Vol. Recomendado
Microlab NIMBUS IVD	Hamilton	65415-02*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

* Utilice los números de catálogo que se muestran arriba para comprar productos de Seegene Inc.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C-2. Microlab STARlet IVD

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de **Microlab STARlet IVD**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Cat. No.	Vol. Recomendado
Microlab STARlet IVD	Hamilton	173000-075*	
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

* Utilice los números de catálogo que se muestran arriba para comprar productos de Seegene Inc.

C-3. Seegene NIMBUS

Nota: Vea el manual de operación Seegene NIMBUS.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Cat. No.	Vol. Recomendado
Seegene NIMBUS	Seegene	65415-03	
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

* Utilice los números de catálogo que se muestran arriba para comprar productos de Seegene Inc.

C-4. Seegene STARlet

Nota: Vea el manual de operación Seegene STARlet.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Cat. No.	Vol. Recomendado
Seegene STARlet	Seegene	67930-03	
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Preparación para PCR en tiempo real

Nota: Deben utilizarse tubos y tapas correctos (consulte MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS).

Nota: Se deben usar puntas con filtro resistentes a aerosoles y guantes ajustados al preparar reacciones de PCR.

Tenga mucho cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: descongele completamente todos los reactivos en hielo.

Nota: centrifugue brevemente los tubos de reactivo para eliminar las gotas del interior de la tapa.

Nota: Cada muestra se analizará simultáneamente en tres reacciones separadas (MTBe, MDRe y XDRé).

Nota: Los pasos A ~ D se procesan automáticamente en Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet. Consulte cada manual de operación

A. Preparar el Mastermix de la PCR.

5 µL MTBe TOM or MDRe TOM or XDRé TOM

5 µL EM1

5 µL RNase-free Water

15 µL Volumen total de PCR Mastermix

Nota: Calcule la cantidad total de cada reactivo necesaria en función del número de reacciones, incluidas las muestras y los controles.

B. Mezclar con vórtex rápido y centrifugar brevemente.

C. Coloque alícuotas de 15 µL de la mezcla maestra de PCR en tubos de PCR.

D. Añada 5 µL de los ácidos nucleicos de cada muestra en el tubo que contiene una alícuota de la mezcla maestra de PCR.

15 µL PCR Mastermix

5 µL Ácidos nucleicos de la muestra

20 µL Volumen Total de Reacción

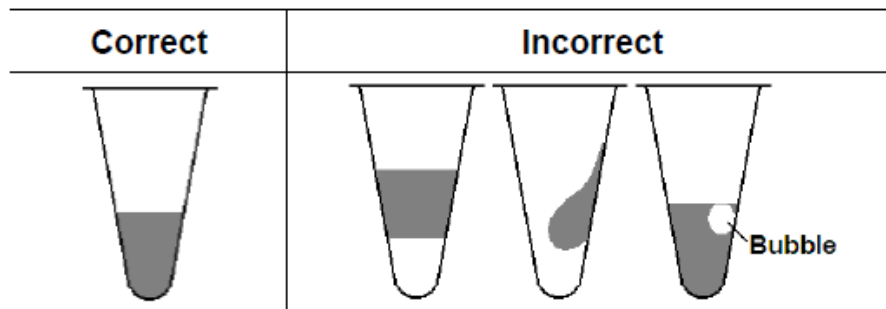
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

E. Cierre la tapa y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

F. Verifique que el líquido que contiene todos los componentes de PCR esté en el fondo de cada tubo de PCR. Si no, centrifugue nuevamente a rpm más altas por más tiempo.

Nota: Se recomienda centrifugar los tubos de PCR antes de la PCR para eliminar las burbujas de aire y recoger todos los líquidos residuales en el fondo de los tubos.



Nota: Utilice una nueva punta de pipeta estéril para cada muestra.

Nota: Para el control negativo (NC), use 5 μ L de agua libre de RNasa en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el control positivo (PC), use 5 μ L de MTB / DRe PC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el control de tipo salvaje (WTC), use 5 μ L de MTB / DRe WTC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: La reacción de control de tipo salvaje siempre debe realizarse para cada ejecución de prueba, y el resultado de resistencia a los medicamentos de muestras desconocidas se analiza en función del resultado del control de tipo salvaje.

Nota: Tenga cuidado de no contaminar de forma cruzada la mezcla maestra de PCR y las muestras con control positivo o control de tipo salvaje.

Nota: No etiquete el tubo de reacción en su tapa. La fluorescencia se detecta en la parte superior de cada tubo de reacción.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONFIGURACIÓN DEL INSTRUMENTO DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

1. CFX96TM Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)

1.1. Configuración del instrumento Real-time PCR

Nota: Para el análisis de datos simple en Seegene Viewer, instale cada tubo de reacción MTBe, MDRe, XDRé en la posición especificada en el bloque de la siguiente manera.

- **MTBe: columna 1 ~ 4**

- **MDRe: columna 5 ~ 8**

- **XDRé: columna 9 ~ 12**

Nota: La configuración del experimento del sistema de detección de PCR en tiempo real CFX96TM (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos: configuración del protocolo, configuración de la placa e inicio de ejecución.

A. Configuración de protocolo

1) En el menú principal, seleccione Archivo → Nuevo → Protocolo para abrir el Editor de protocolos.

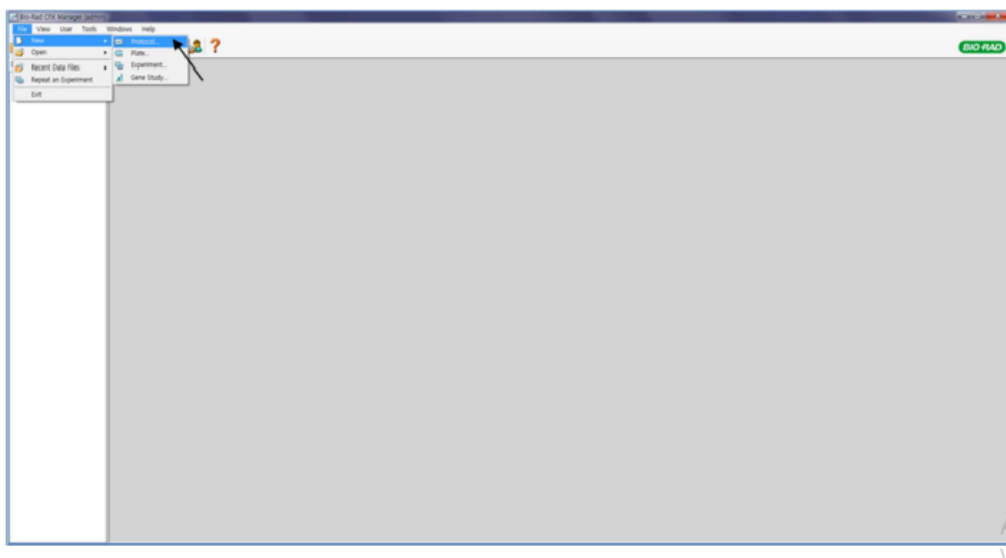


Fig. 1. Configuración del protocolo. Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para la ejecución

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

Dra. MARILINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) En **Protocol Editor**, defina el perfil térmico de la siguiente manera:

Step	No. of cycles	Temperature	Duration
1	1	95°C	15 min
2		95°C	30 sec
3*	50	60°C	1 min
4		72°C	30 sec
5		GOTO Step 2, 49 more times	
6	1	55°C	30 sec
7*	1	Melting curve 55°C ~ 85°C (5 sec/0.5°C)	

* **Lectura de placa en los pasos 3 y 7.** Se detecta fluorescencia a 60 ° C y curva de fusión.

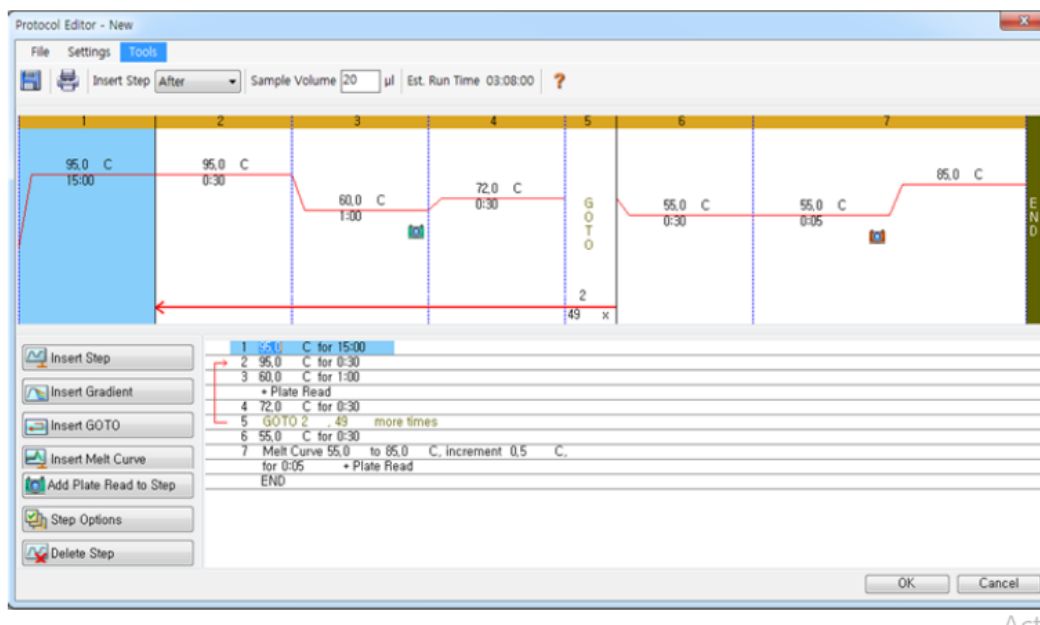


Fig. 2. Protocol Editor

3) Haga clic en la casilla junto a **Sample Volume** para ingresar directamente 20 µL.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Haga clic en **OK** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Experiment Setup**.

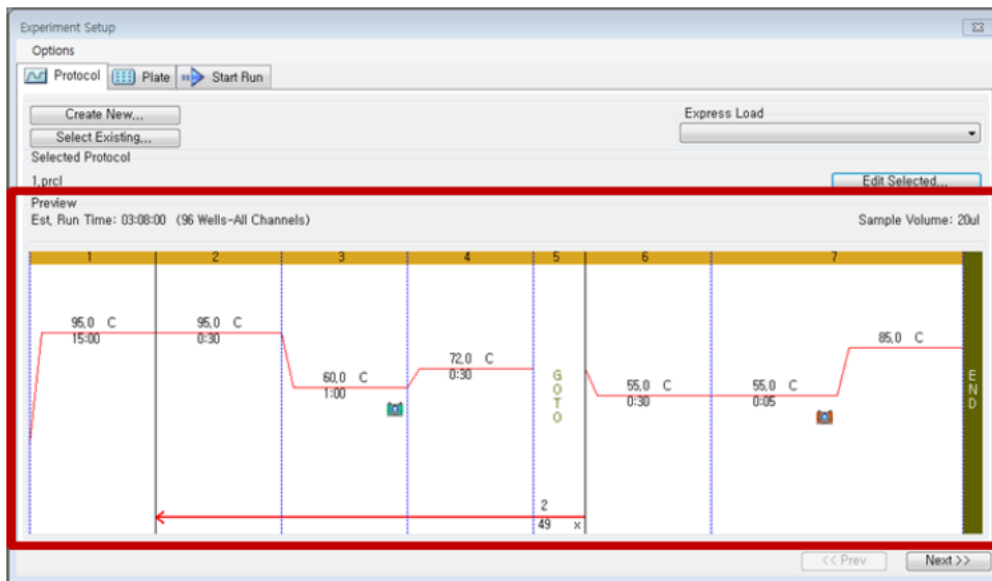


Fig. 3. Experiment Setup: Protocol

B. Configuración de la placa

1) En la pestaña **Plate** en **Experiment Setup**, haga clic en **Create New** para abrir la ventana del **Plate Editor**.

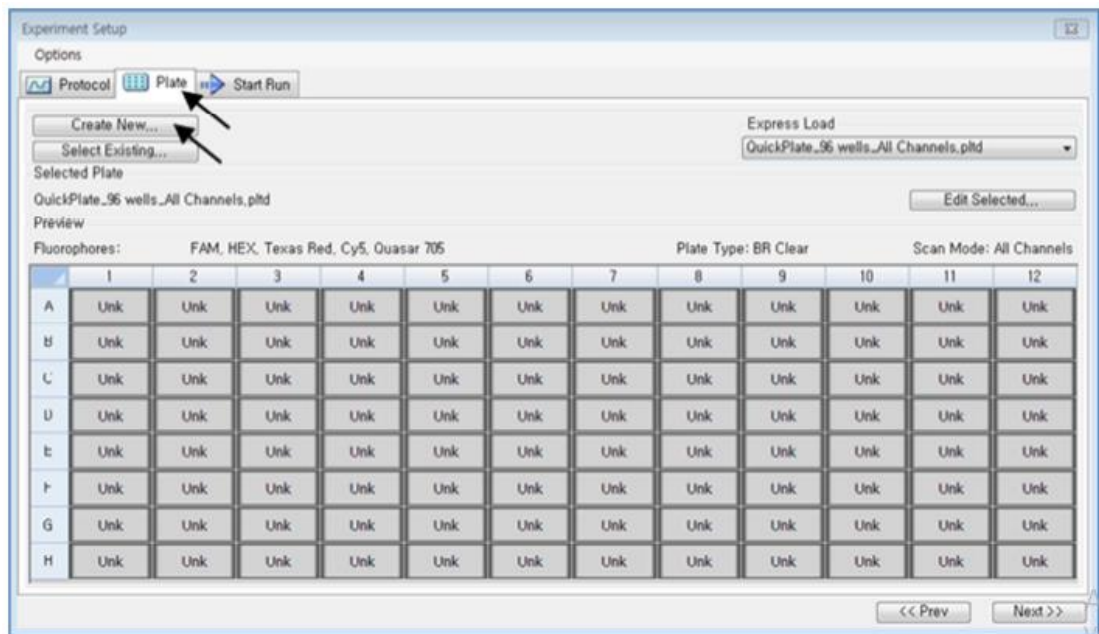


Fig. 4. Editor de placas. Crea un plato nuevo

2) Haga clic en **Select Fluorophores** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) que se utilizarán y haga clic en **OK**.

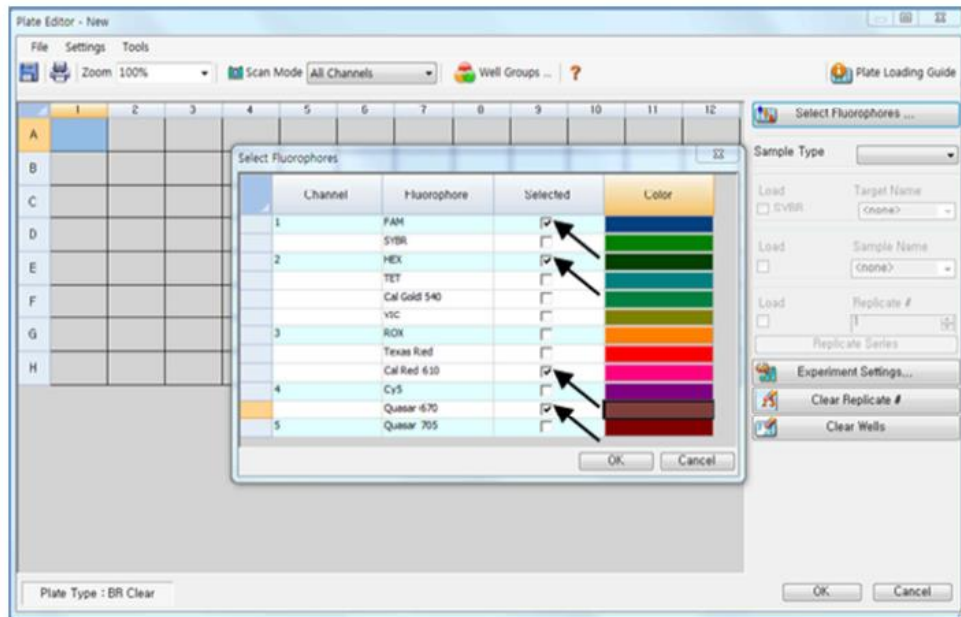


Fig. 5. Seleccione fluoróforos (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable Tipo de muestra.

- **Desconocido:** Muestras clínicas y controles de tipo salvaje
- **Negative Control**
- **Positive Control**

4) Haga clic en las casillas de verificación apropiadas (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluoróforos que se detectarán en los pocillos seleccionados.

5) Escriba **Sample Name** y presione la tecla Intro.

Nota: En los casos de control de tipo salvaje, se debe escribir el nombre correcto de la siguiente manera.

- WTcCe para la reacción MTBe
- MWTCe para reacción MDRe
- XWTcCe para reacción XDRe

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

6) En **Settings** del **Plate Editor** del menú principal, elija **Plate Size (96 wells)** y **Plate Type (BR White)**.

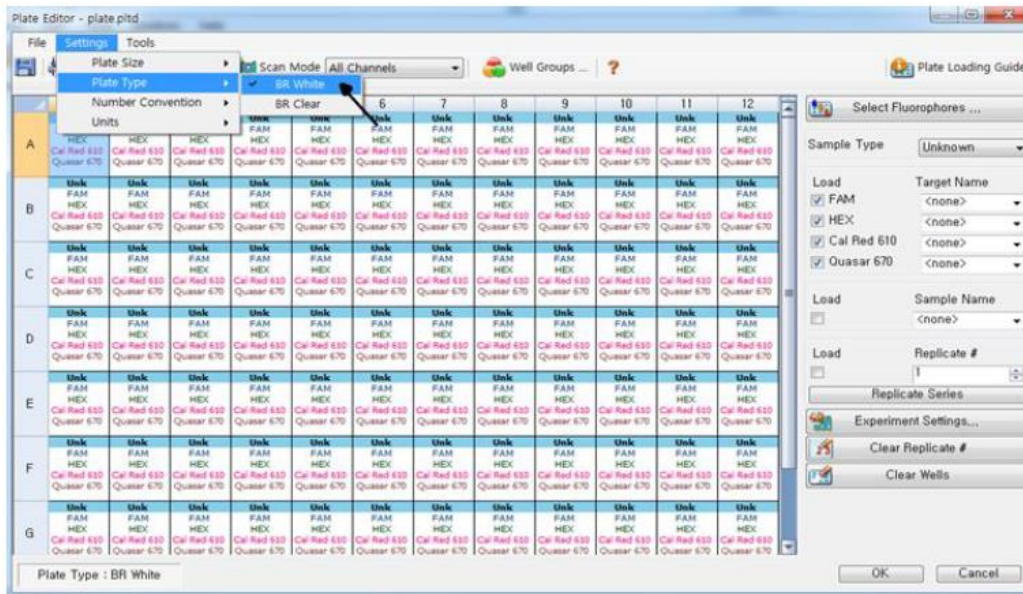


Fig. 6. Plate Setup

7) Haga clic en **OK** para guardar la nueva placa.

8) Volverá a la ventana **Experiment Setup**.



Fig. 7. Experiment Setup: Plate

9) Haga clic en **Next**, para comenzar a ejecutar.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Comenzar a correr

1) En la pestaña **Start Run** en **Experiment Setup**, haga clic en **Close Lid** para cerrar la tapa del instrumento.

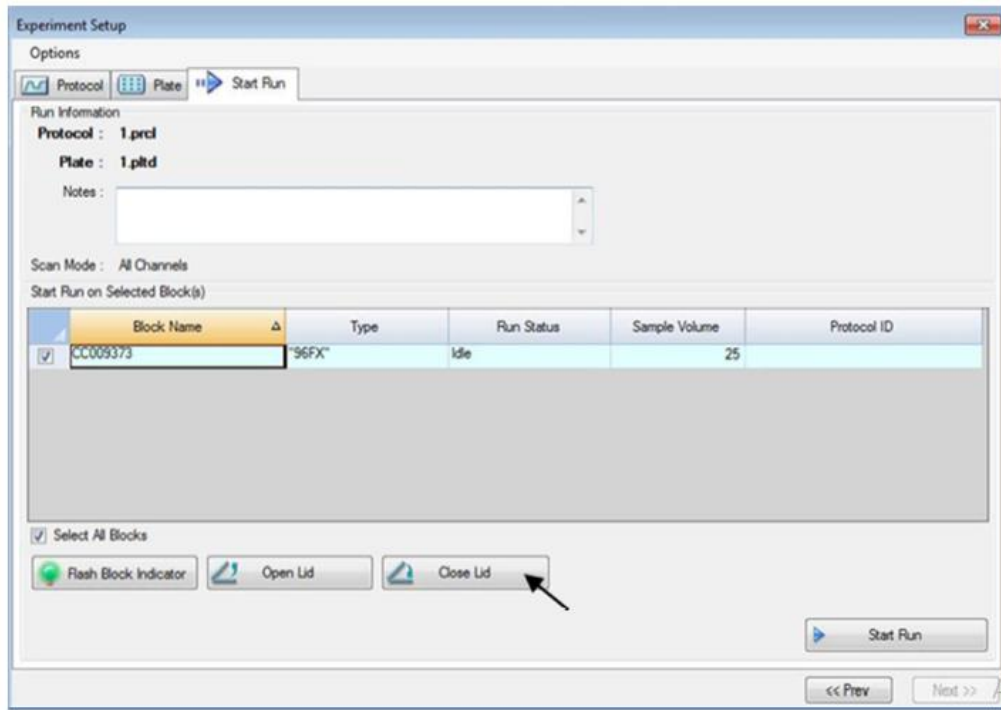


Fig. 8. Close Lid

2) Haga clic en **Start Run**.

3) Almacene el archivo de ejecución en Mis documentos o en una carpeta designada. Ingrese el nombre del archivo, haga clic en **SAVE** y comenzará la ejecución.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1.2. Análisis de los datos

A. Crear carpetas para exportar datos

- 1) Para guardar datos para todos los pasos de detección de curva de amplificación del archivo de resultados, cree una carpeta.
- 2) El nombre de la carpeta puede ser el deseado por el usuario (para la función "Seegene Export", las carpetas "QuantStep3" y "MeltStep7" se crean automáticamente para guardar los datos de cada curva de amplificación en la carpeta creada por el usuario).

B. Preconfiguraciones para el análisis de datos en CFX Manager™

- 1) Después de la prueba, haga clic en la pestaña Cuantificación para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

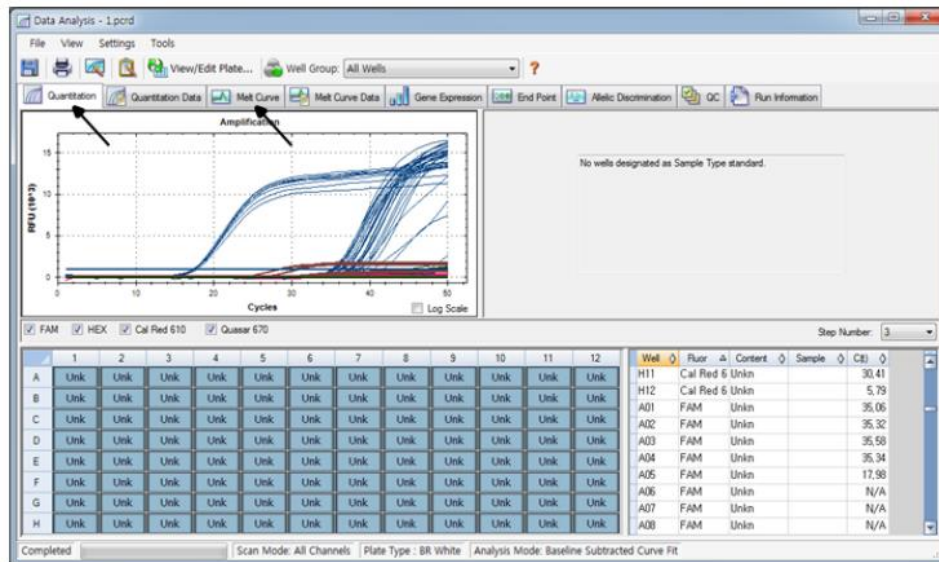


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **Seegene Export** en el menú de herramientas.

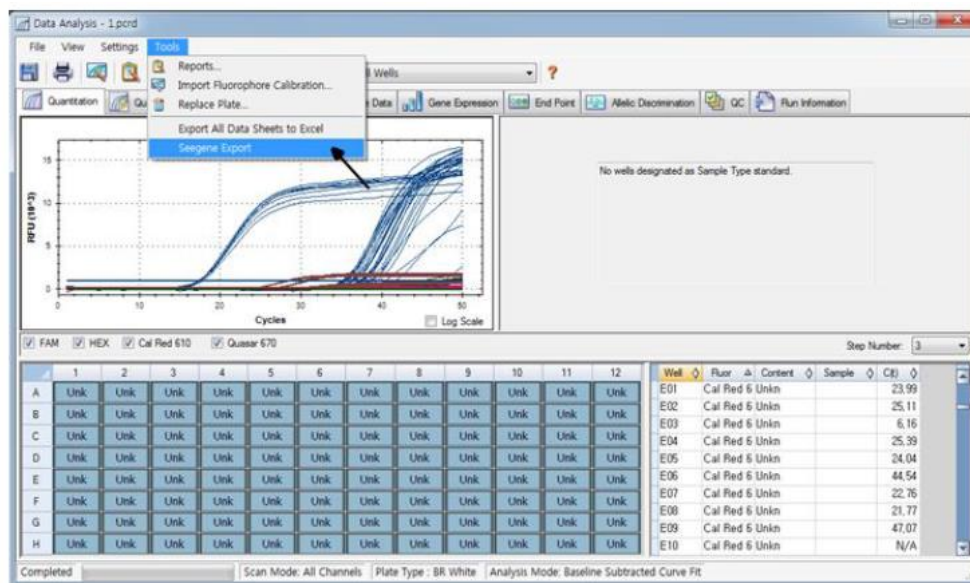


Fig. 10. Seegene Export

3) Elija una ubicación para guardar datos y haga clic en **OK**.

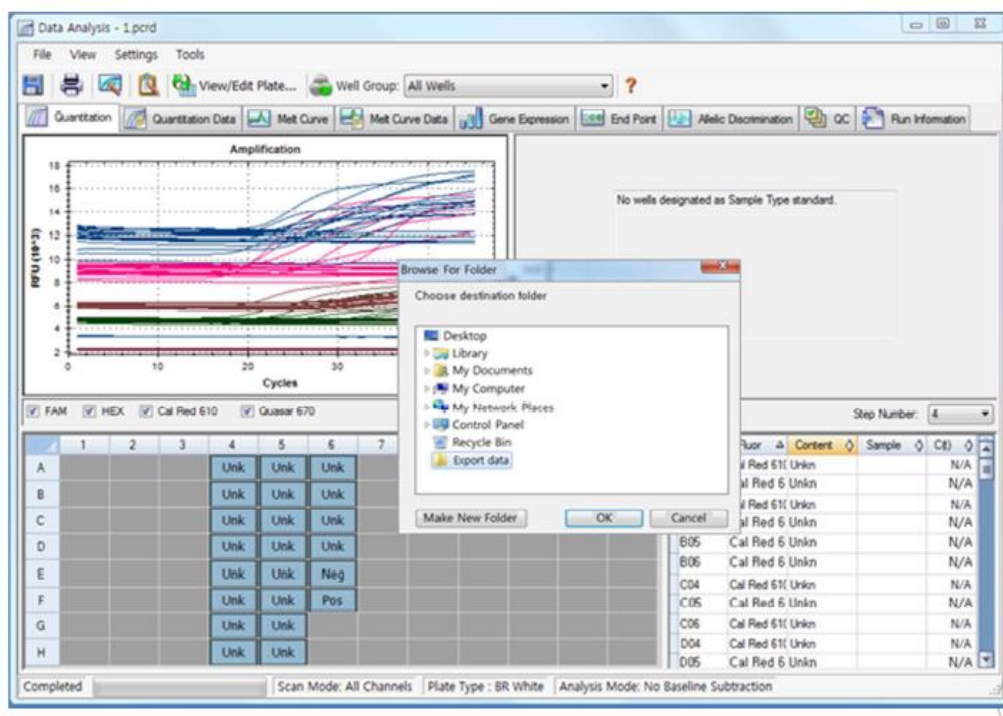


Fig. 11. Seegene Exportar a la carpeta designada

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Configuración para el análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa **Seegene Viewer** y haga clic en Opción para seleccionar CFX96 en el Instrumento.

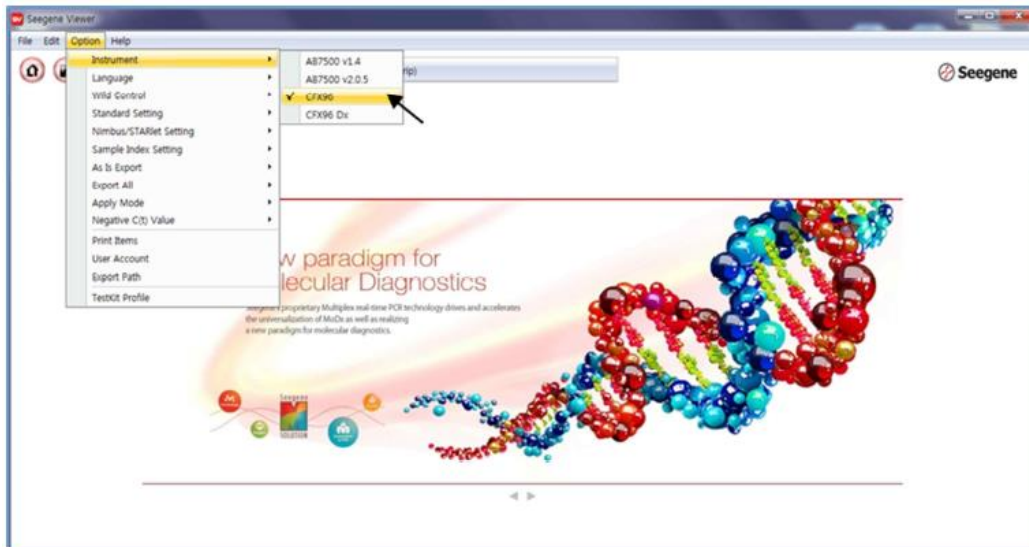


Fig. 12. Seegene Viewer

2) Haga clic en **Open** para buscar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep3", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT**.

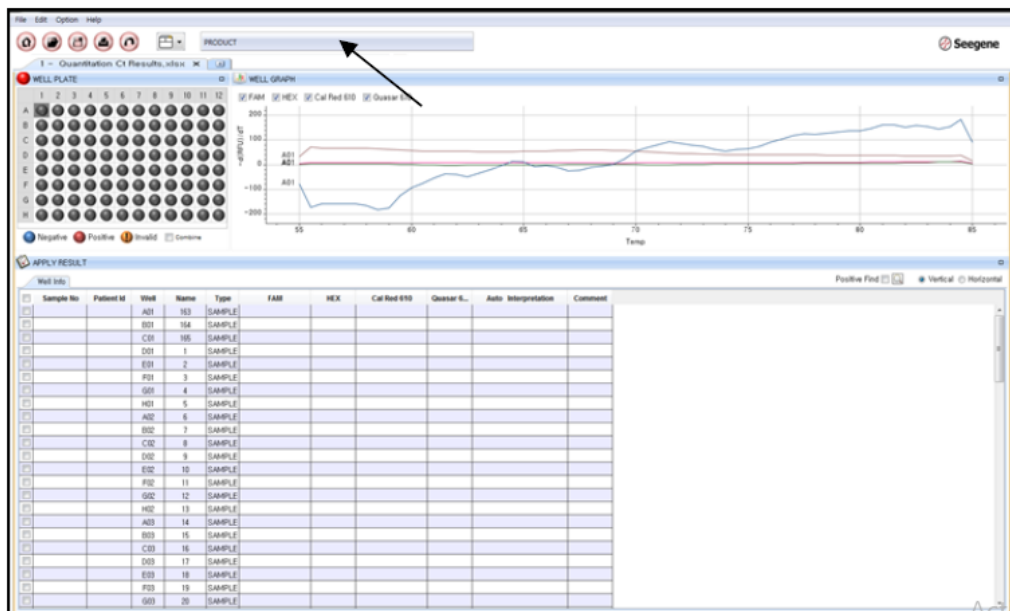


Fig. 13. Configuración para el análisis de datos en Seegene Viewer

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3) Verifique el resultado para cada pocillo.



Fig. 14. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

4) Criterios de validez de los resultados de control

a. Ejecución de ensayo válida

Para confirmar la validez de los experimentos, las series de PCR deben ir acompañadas de PC (control positivo) y NC (control negativo). La ejecución del ensayo se determina como válida cuando se cumplen todos los siguientes criterios:

Control	Reacción	Resultado del visor de Seegene (Ct)				Interpretación automática
		FAM	HEX	Cal Red 610	Quasar 670	
Control Positivo	MTBe	Ct ≤ 28	-	-	Ct ≤ 29	Control Positivo (+)
	MDRe	-	Positivo	Positivo	Positivo	
	XDR	-	Positivo	Positivo	Positivo	
Control Negativo	MTBe	N/A	-	-	N/A	Control Negativo (-)
	MDRe	-	N/A	N/A	N/A	
	XDR	-	N/A	N/A	N/A	

b. Ejecución de ensayo no válida

En casos de falla de validez, los resultados no deben interpretarse ni informarse. Y la reacción de PCR debe repetirse.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. CFX96TM Dx System (CFX ManagerTM Dx Software v3.1)

2.1. Configuración del instrumento PCR Real-time

Nota: Para el análisis de datos simple en Seegene Viewer, instale cada tubo de reacción MTBe, MDRe, XDRé en la posición especificada en el bloque de la siguiente manera.

- **MTBe: columna 1 ~ 4**

- **MDRe: columna 5 ~ 8**

- **XDRé: columna 9 ~ 12**

Nota: La configuración del experimento del CFX96TM Dx System (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos:

Configuración del protocolo, configuración de la placa e inicio de ejecución.

A. Configuración del protocolo

1) En el menú principal, seleccione **File à New à Protocol** abrir Protocol Editor.

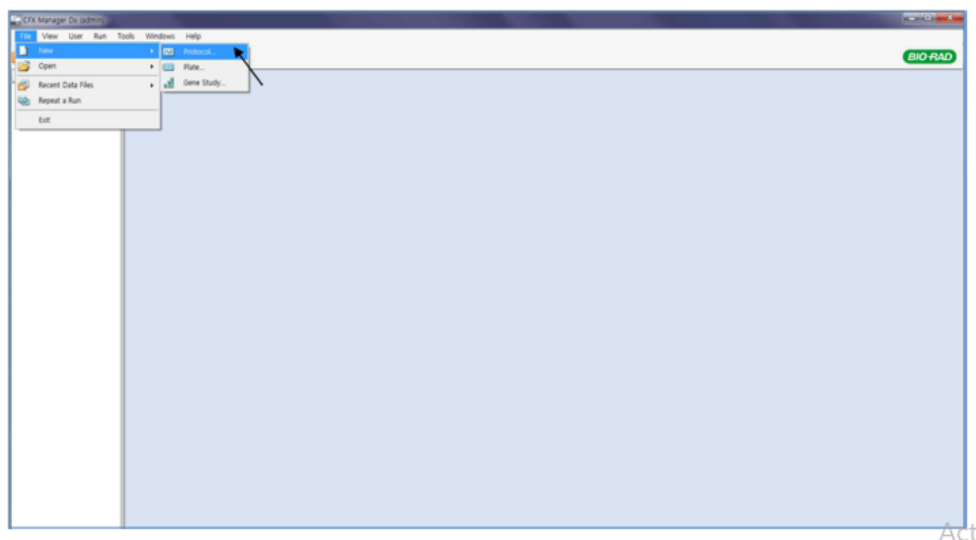


Fig. 1. **Configuración del protocolo.** Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para la ejecución

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) En el **Protocol Editor**, defina el perfil térmico de la siguiente manera:

Step	No. of cycles	Temperature	Duration
1	1	95°C	15 min
2		95°C	30 sec
3*	50	60°C	1 min
4		72°C	30 sec
5		GOTO Step 2, 49 more times	
6	1	55°C	30 sec
7*	1	Melting curve 55°C ~ 85°C (5 sec/0.5°C)	

* **Lectura de placa en los pasos 3 y 7.** Se detecta fluorescencia a 60 ° C y curva de fusión.

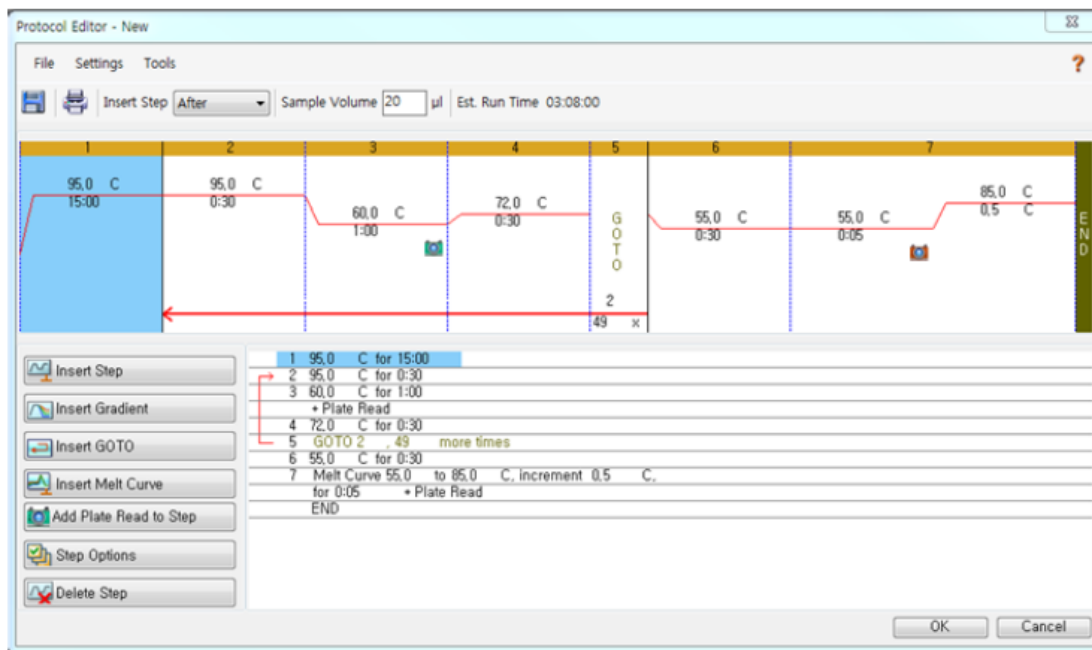


Fig. 2. **Protocol Editor**

3) Haga clic en la casilla **Sample Volume** para ingresar directamente 20 µL.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Haga clic en **OK** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup**.

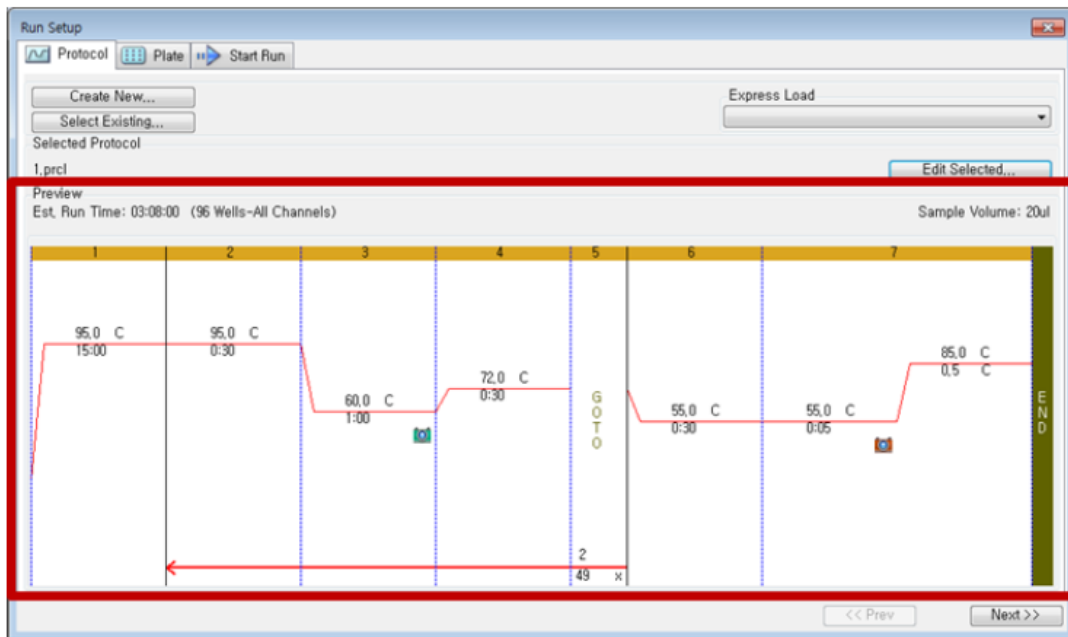


Fig. 3. Run Setup: Protocol

B. Configuración de la placa

1) Desde la pestaña **Plate** en **Run Setup**, haga clic en **Create New** para abrir la ventana **Plate Editor**.



Fig. 4. Plate Editor Crea un plato nuevo

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Select Fluorophores** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) que se utilizarán y haga clic en **OK**.

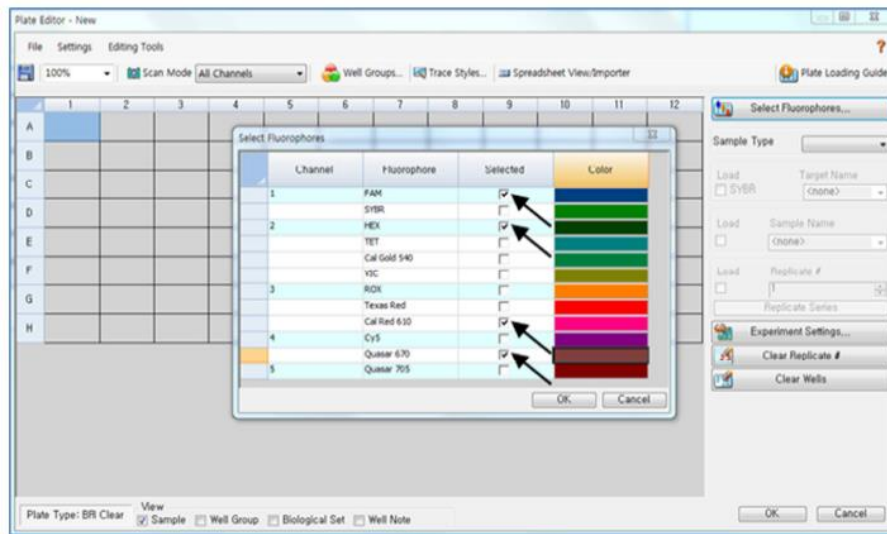


Fig. 5. **Selección de fluoróforos (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)**

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type**.

- **Desconocido:** Muestras clínicas y controles de tipo salvaje
- **Control negativo**
- **Control positivo**

4) Haga clic en las casillas de verificación apropiadas (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluoróforos a detectar en los pozos seleccionados.

5) Escriba el **Nombre de la muestra** y presione la tecla Intro.

Nota: En los casos de control de tipo salvaje, se debe escribir el nombre correcto de la siguiente manera.

- **WTCe para la reacción MTBe**
- **MWTCe para reacción MDRe**
- **XWTCe para reacción XDRe**

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

6) En Configuración del menú principal del **Plate Editor**, elija **Plate Size (96 wells)** y **Plate Type (BR White)**.

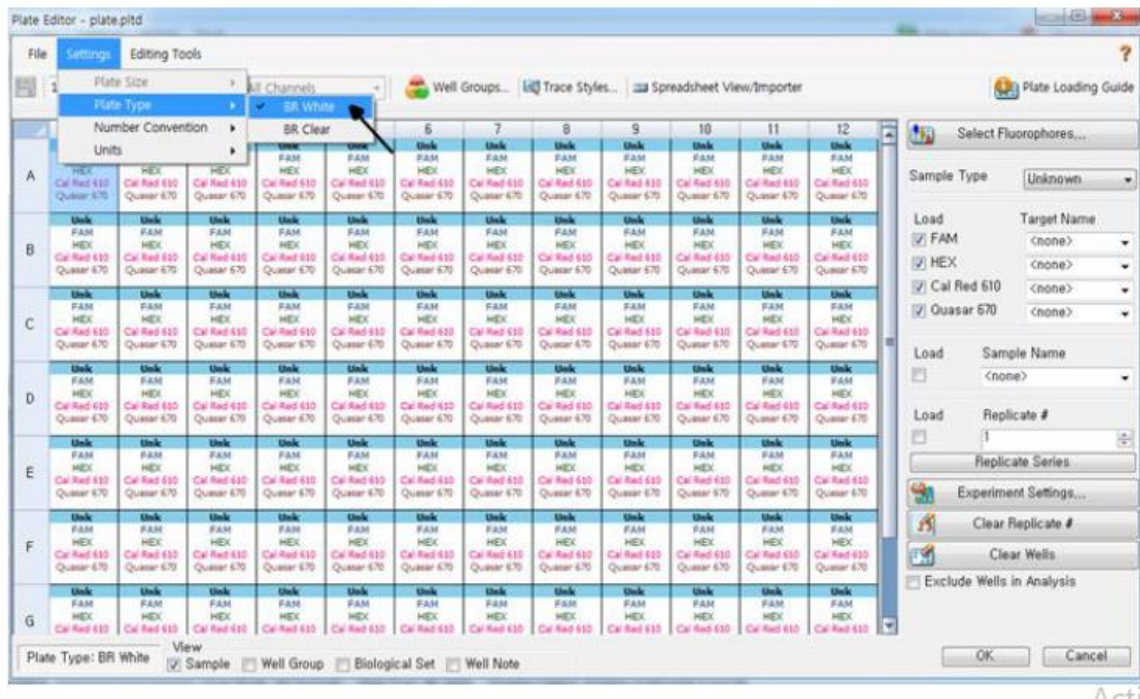


Fig. 6. Plate Setup

7) Haga clic en **OK** para guardar la nueva placa.

8) Volverá a la ventana **Run Setup**.

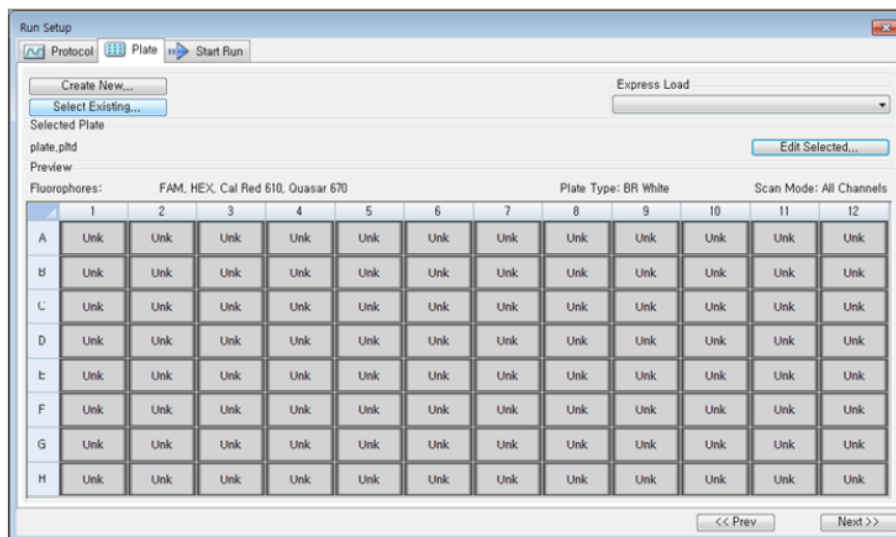


Fig. 7. Configuración de ejecución: plate

9) Haga clic en **Next** para comenzar a ejecutar.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APDERADA
BioSystems S.A.

C. Comenzar a correr

1) En la pestaña **Start Run** en **Run Setup**, haga clic en **Close Lid** para cerrar la tapa del instrumento.

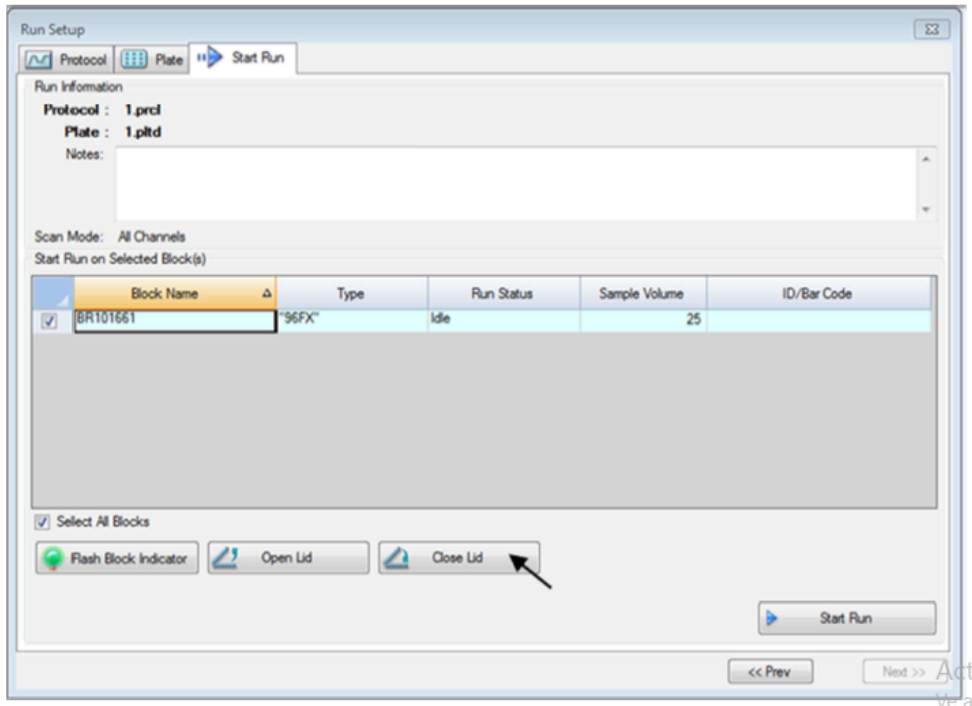


Fig. 8. Close Lid

2) Haga clic en **Start Run**.

3) Almacene el archivo de ejecución en Mis documentos o en una carpeta designada. Ingrese el nombre del archivo, haga clic en **SAVE** y comenzará la ejecución.

2.2. Análisis de los datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Para guardar datos para todos los pasos de detección de curva de amplificación del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El nombre de la carpeta puede ser el deseado por el usuario (para la función "Seegene Export", las carpetas "QuantStep3" y "MeltStep7" se crean automáticamente para guardar los datos de cada curva de amplificación en la carpeta creada por el usuario).

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Preconfiguraciones para el análisis de datos en CFX Manager™

1) Después de la prueba, haga clic en la pestaña Cuantificación para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

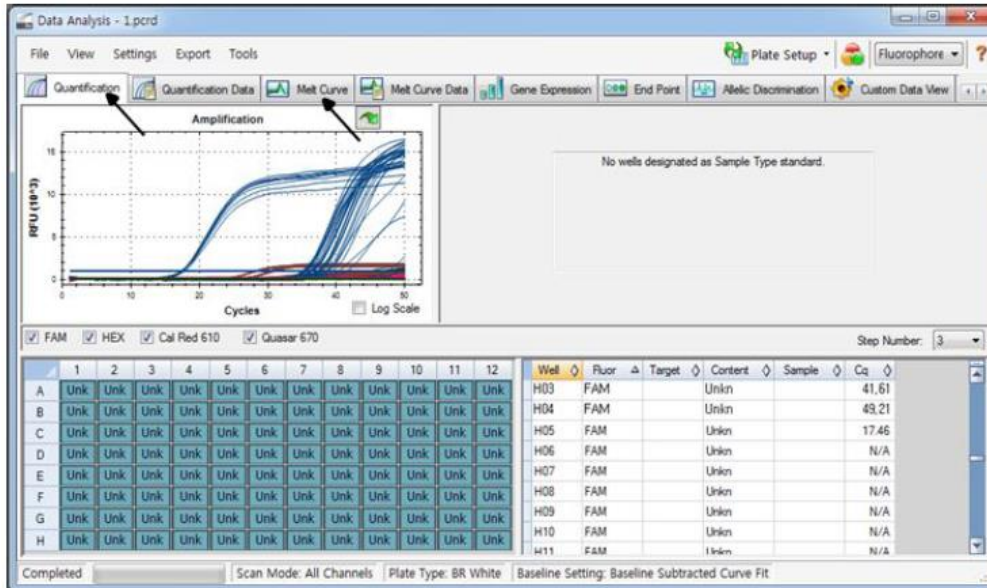


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

2) Seleccione **Seegene Export** para Exportar Menu.

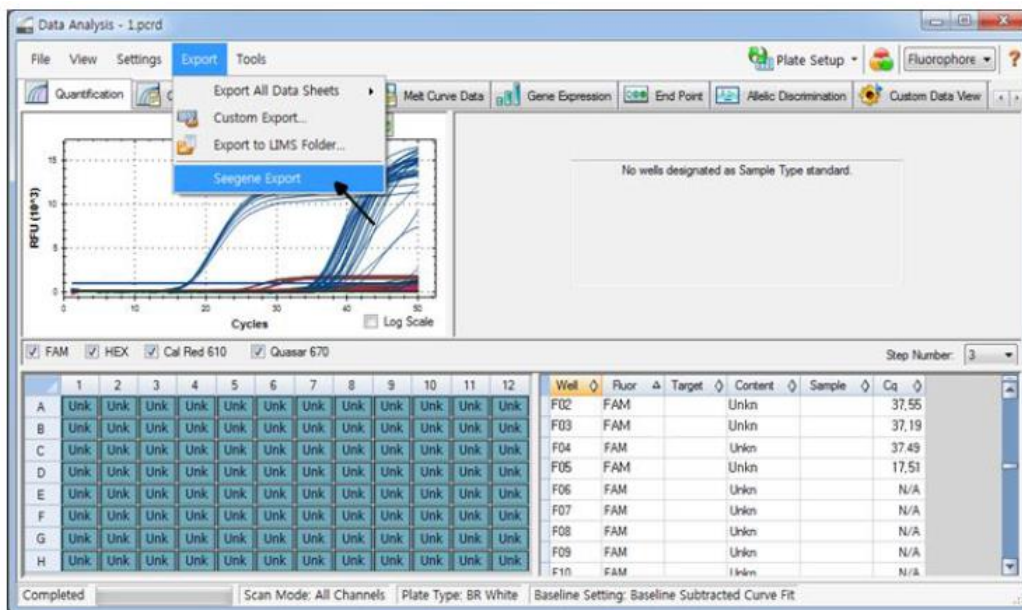


Fig. 10. Seegene Export

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3) Elija una ubicación para guardar datos y haga clic en **OK**.

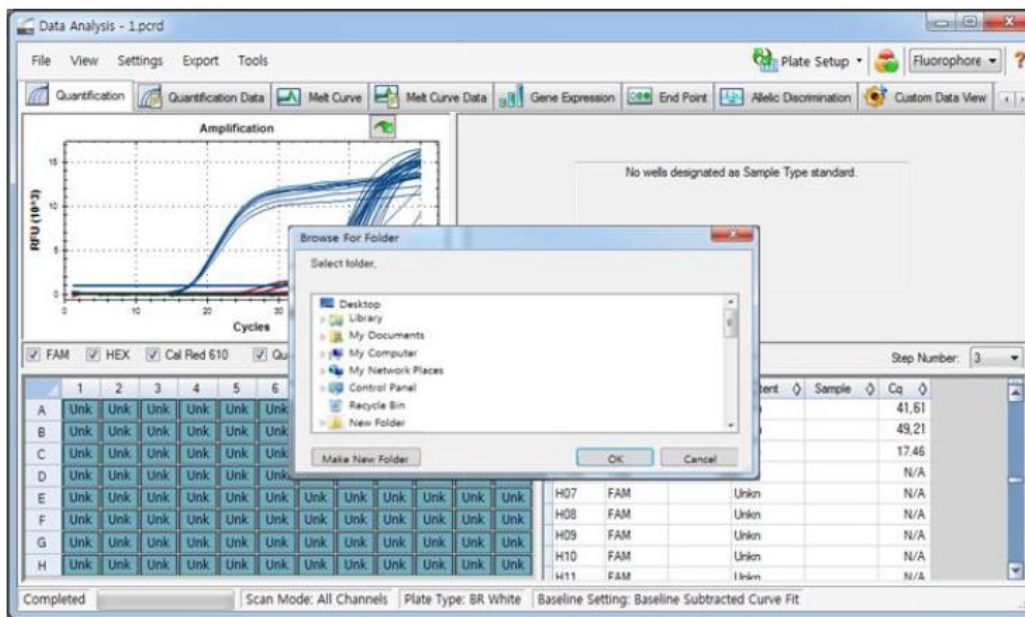


Fig. 11. Seegene Exportar a la carpeta designada

C. Configuración para el análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option** para seleccionar **CFX96 Dx** en el Instrumento.

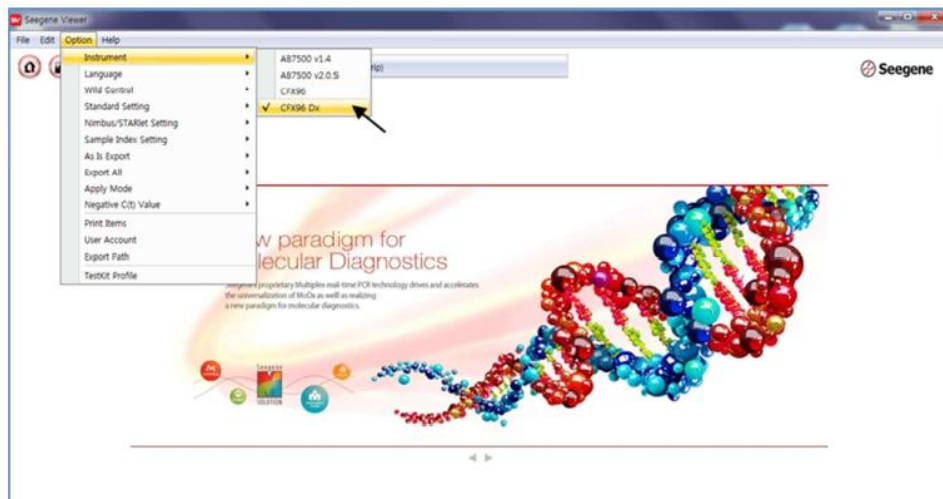


Fig. 13. Seegene Viewer

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open** para buscar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep3", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT**.

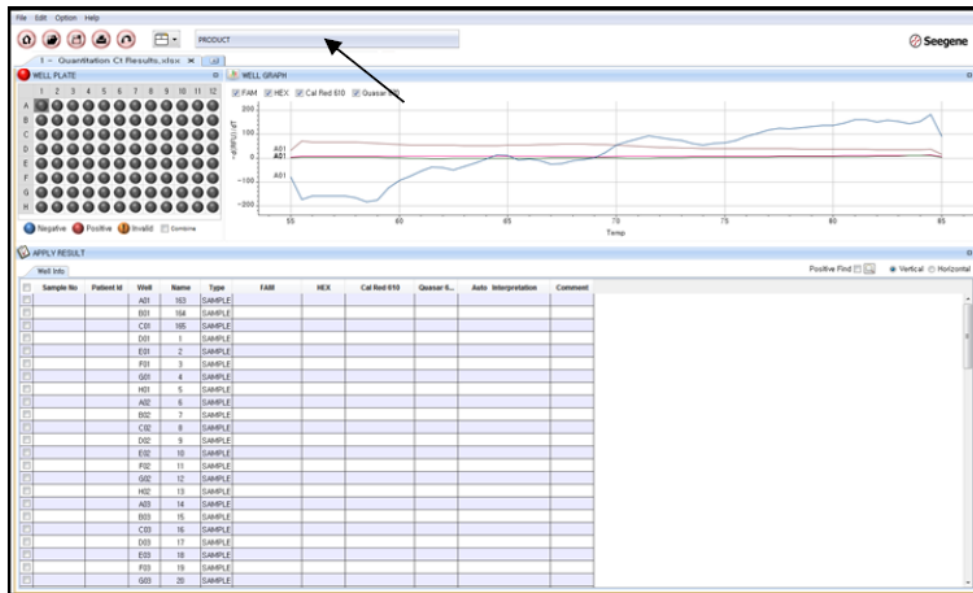


Fig. 13. Configuración para el análisis de datos en Seegene Viewer

3) Verifique el resultado para cada pocillo.

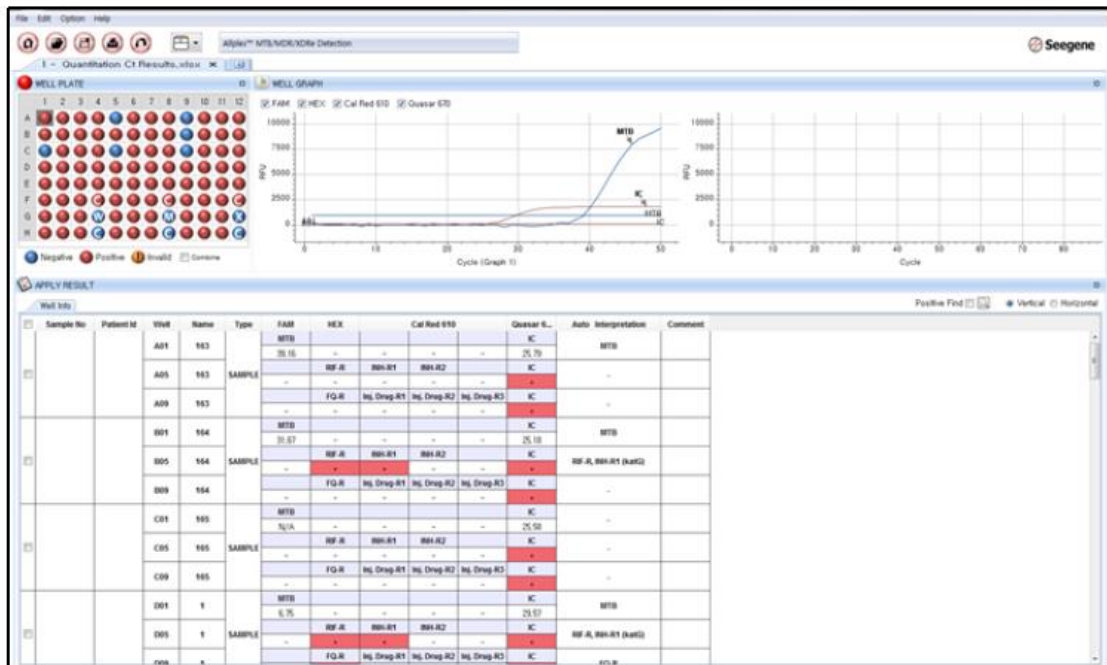


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Criterios de validez de los resultados de control

a. Ejecución de ensayo válida

Para confirmar la validez de los experimentos, las series de PCR deben ir acompañadas de PC (control positivo) y NC (control negativo). La ejecución del ensayo se determina como válida cuando se cumplen todos los siguientes criterios:

Control	Reacción	Resultado del visor de Seegene (Ct)				Interpretación automática
		FAM	HEX	Cal Red 610	Quasar 670	
Control Positivo	MTBe	Ct ≤ 28	-	-	Ct ≤ 29	Control Positivo (+)
	MDRe	-	Positivo	Positivo	Positivo	
	XDRe	-	Positivo	Positivo	Positivo	
Control Negativo	MTBe	N/A	-	-	N/A	Control Negativo (-)
	MDRe	-	N/A	N/A	N/A	
	XDRe	-	N/A	N/A	N/A	

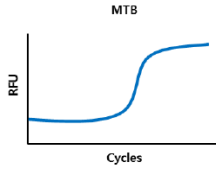
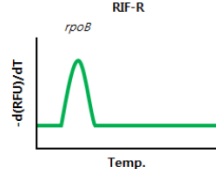
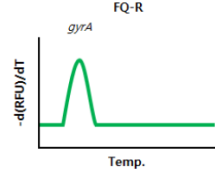
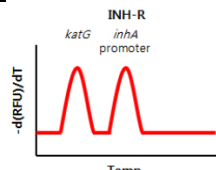
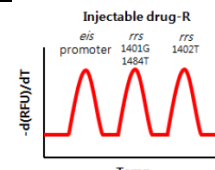
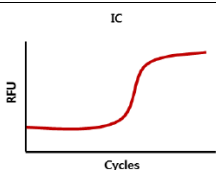
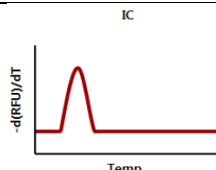
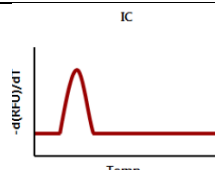
b. Ejecución de ensayo no válida

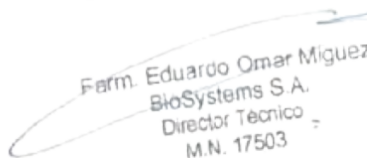
En casos de falla de validez, los resultados no deben interpretarse ni informarse. Y la reacción de PCR debe repetirse.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

1. Información del analito

Fluoróforo	MTBe	MDRe	XDRe
FAM		Sin objetivo	Sin objetivo
HEX	Sin objetivo		
Cal Red 610	Sin objetivo		
Quasar 670			


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


 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

<MTBe>

Fluoróforo	Analito	Resultado en Seegene Viewer
FAM	MTB	MTB
Cal Red 610	IC	IC

<MDRe>

Fluoróforo	Analito	Resultado en Seegene Viewer
HEX	RIF-R (18 mutaciones en rpoB)	RIF-R
Cal Red 610	INH-R (4 mutaciones en katG)	INH-R1 (katG)
	INH-R (3 mutaciones en el promotor inhA)	INH-R2 (inhA)
Quasar 670	IC	IC

<XDRe>

Fluoróforo	Analito	Resultado en Seegene Viewer
HEX	FQ-R (7 mutaciones en gyrA)	FQ-R
Cal Red 610	Inj. droga-R (3 mutaciones en el promotor eis)	Inj. drug-R1 (eis)
	Inj. droga-R (2 mutaciones en rrs: 1401G y 1484T)	Inj. drug-R2 (rrs)
	Inj. droga-R (1 mutación en rrs: 1402T)	Inj. drug-R3 (rrs 1402T)
Quasar 670	IC	IC

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Interpretación de los resultados

2.1. Reacción MTBe

Valor C _t	Resultado
≤ 45	Detectado (+)
> 45 o N/A	No Detectado (-)

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	MTB (FAM)		
1	+	+		MTB detectado
2	+	-		MTB no detectado
3	-	+		MTB detectado
4	-	-		Invalido ¹⁾

2.2. Reacción MDRe

El resultado de la reacción de MDRe depende del resultado de la reacción de MTBe.

A. En caso de "MTB detectado"

Caso	IC (Quasar 670)	Resultado		Interpretación
		RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	INH-R & RIF-R detectado
2		+	-	RIF-R detectado
3		-	+	INH-R detectado
4		-	-	MTB detectado
5	-	+/-	+/-	Invalido ²⁾

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. En caso de "MTB no detectado"

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	Invalido ³⁾
2		+	-	Invalido ³⁾
3		-	+	Invalido ³⁾
4		-	-	-
5	-	+/-	+/-	Invalido ²⁾

C. En caso de reacción MTBe 'Inválido'

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	Invalido ¹⁾
2		+	-	
3		-	+	
4		-	-	
5	-	+/-	+/-	

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2.3. Reacción XDRe

El resultado de la reacción de XDRe depende del resultado de la reacción de MTBe.

A. En caso de "MTB detectado"

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	FQ-R & Inj. drug-R detectado
2		+	-	FQ-R detectado
3		-	+	Inj. drug-R detectado
4		-	-	MTB detectado
5	-	+/-	+/-	Invalido ²⁾

B. En caso de "MTB no detectado"

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	Invalido ³⁾
2		+	-	Invalido ³⁾
3		-	+	Invalido ³⁾
4		-	-	-
5	-	+/-	+/-	Invalido ¹⁾

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. En caso de reacción MTBe 'Inválido'

Caso	Resultado			Interpretación
	IC (Quasar 670)	RIF-R (HEX)	INH-R (Cal Red 610)	
1	+	+	+	Invalido ¹⁾
2		+	-	
3		-	+	
4		-	-	
5		-	+/-	

2.4 Explicación complementaria sobre Invalid

No válido 1) Repita la prueba de la extracción de ácido nucleico utilizando otra alícuota de la muestra original. Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico reextraído, diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en agua libre de ARNasa y repita la extracción (después de agregar MTB / DRe IC) y PCR.

No válido 2) El resultado de la prueba de MTB es válido. Para confirmar el resultado de la farmacoresistencia, repita la prueba de extracción de ácido nucleico usando otra alícuota de la muestra original. Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico reextraído, diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en agua libre de ARNasa y repita la extracción (después de agregar MTB / DRe IC) y PCR.

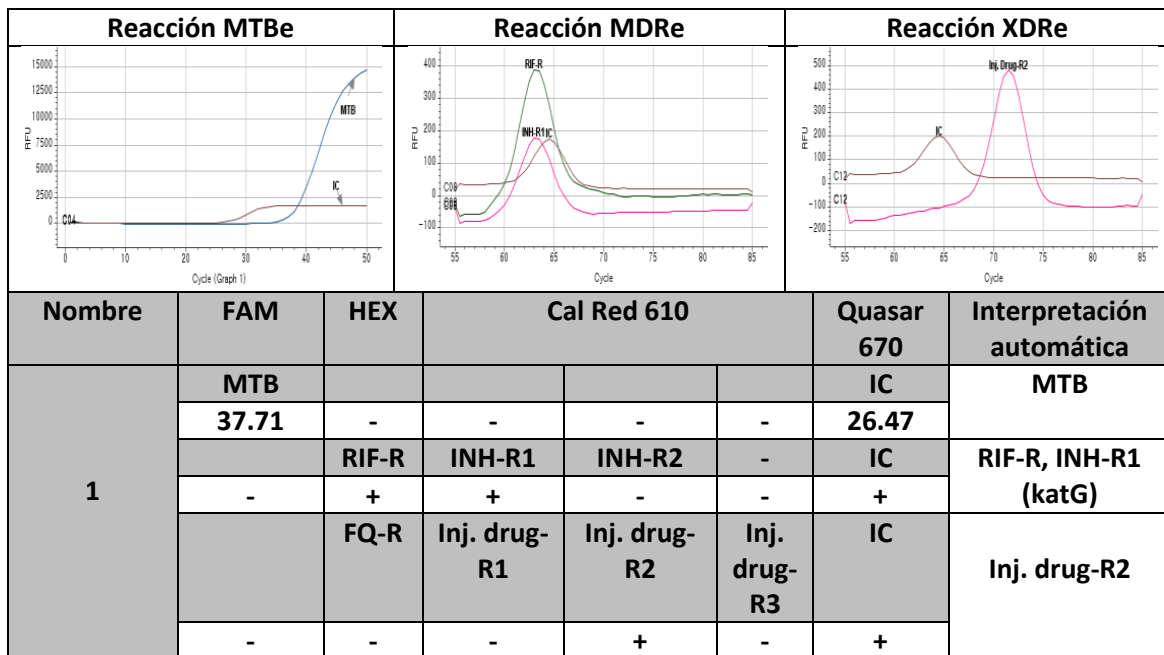
No válido 3) No se detecta MTB pero se detecta resistencia a los medicamentos. Repita la prueba de extracción de ácido nucleico utilizando otra alícuota de la muestra original. Si se muestra el mismo resultado, consulte los resultados de otros métodos de diagnóstico.

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

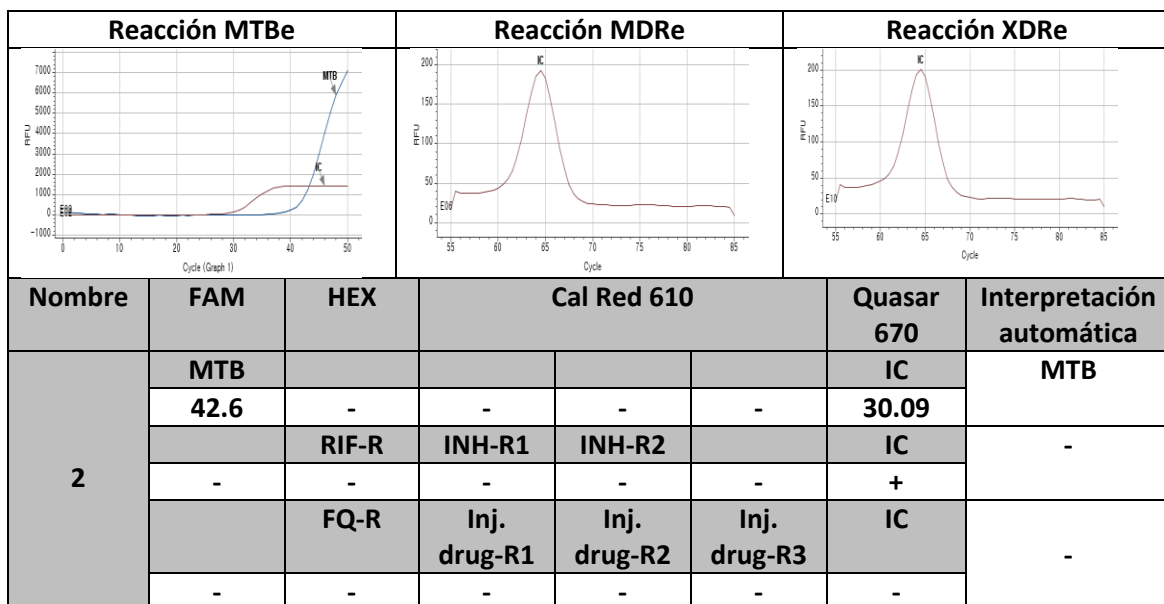
Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Aplicación a muestras clínicas

Muestra 1



Muestra 2



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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection		
OBSERVACIÓN	CAUSAS PROBABLES	SOLUCIÓN
Sin señal	Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo.	Seleccione los fluoróforos correctos para el análisis de datos y exporte los datos nuevamente. No hay necesidad de repetir la prueba en este caso.
	Configuración incorrecta del termociclador en tiempo real	Verifique las condiciones del ciclo térmico y repita la prueba con la configuración correcta.
	Almacenamiento incorrecto o fecha de caducidad pasada del kit de prueba	Compruebe las condiciones de almacenamiento (consulte la página 11) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit de prueba y use un kit nuevo si es necesario.
	Fracaso de extracción de ácido nucleico	Ninguna señal que incluya IC puede indicar pérdida de ácido nucleico durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado. Si se debe a inhibidores, vuelva a extraer la muestra original o diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.
No hay señal de control interno	Alta carga de ácido nucleico del patógeno.	Si se observa la señal del patógeno objetivo pero no IC, entonces la amplificación de IC puede haber sido inhibida por un alto título del patógeno objetivo. Para confirmar la señal IC, diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.
	Presencia de inhibidor de RT-PCR	Diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.
Señales de falso positivo o objetivo putativas observadas en el control negativo	Contaminación	Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Utilice únicamente puntas de filtro durante todo el procedimiento y cambie las puntas entre tubos. Repita todo el procedimiento de extracción de ácido nucleico con un nuevo conjunto de reactivos.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection		
OBSERVACIÓN	CAUSAS PROBABLES	SOLUCIÓN
Putativo falso negativo o ninguna señal observada en control positivo	Error en la recolección de muestras	Verifique el método de recolección de muestras y vuelva a recolectarlas.
	Almacenamiento incorrecto de la muestra.	Vuelva a recoger la muestra y repita todo el procedimiento. Asegúrese de que la muestra se almacene como se recomienda.
	Error en la extracción de ácido nucleico	Verifique el procedimiento de extracción de ácido nucleico, así como la concentración de ácido nucleico, y vuelva a extraer el ácido nucleico.
	Error al agregar ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes	Verifique el número de muestras de tubos que contienen ácido nucleico y asegúrese de agregar ácido nucleico en los tubos de PCR correctos y repita cuidadosamente la prueba si es necesario.
	Presencia de inhibidor	Diluya la muestra (1/10 ~ 1/100) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.
	Mezcla de PCR incorrecta	Confirme que todos los componentes se agregan a la mezcla RTPCR (la sensibilidad se ve comprometida con la premezcla precompuesta). Todos los reactivos deben homogeneizarse y centrifugarse antes de su uso.
Solo se detectó el subtipo del virus de la influenza A pero no el virus de la influenza A	Título bajo del ácido nucleico del patógeno	Los resultados deben interpretarse de acuerdo con la tabla de interpretación proporcionada, pero se puede realizar una nueva prueba si se desea con un volumen reducido de agua libre de ARNasa y un volumen mayor de ácido nucleico.
Picos en cualquier ciclo de curva de amplificación	Burbuja en el tubo de PCR	Centrifugue el tubo de PCR antes de ejecutarlo.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RENDIMIENTO
1. Especificidad

La alta especificidad de Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection está garantizada por los oligos diseñados específicamente para los objetivos de interés en las condiciones de reacción establecidas. Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection se probó para determinar la reactividad cruzada con 122 patógenos diferentes, y la amplificación y detección por PCR solo se identificó en los objetivos especificados.

1.1. MTBe

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
1	Mycobacterium tuberculosis	KMRC	0110-00007	+	-
2	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L511P)	ADN plásmido		+	+
3	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513K)	ADN plásmido		+	+
4	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513L)	ADN plásmido		+	+
5	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513P)	ADN plásmido		+	+
6	Mycobacterium tuberculosis (rpoB 3 amino acid deletion in 513~516)	ADN plásmido		+	+
7	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516V)	ADN plásmido		+	+
8	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516Y)	ADN plásmido		+	+
9	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522L)	ADN plásmido		+	+
10	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522Q)	ADN plásmido		+	+
11	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526C)	ADN plásmido		+	+
12	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526D)	ADN plásmido		+	+
13	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526L)	ADN plásmido		+	+
14	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526N)	ADN plásmido		+	+
15	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526R)	ADN plásmido		+	+
16	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526Y)	ADN plásmido		+	+
17	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531L)	ADN plásmido		+	+
18	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531W)	ADN plásmido		+	+
19	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L533P)	ADN plásmido		+	+
20	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACC))	ADN plásmido		+	+

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
21	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACA))	ADN plásmido		+	+
22	Mycobacterium tuberculosis (katG S315N)	ADN plásmido		+	+
23	Mycobacterium tuberculosis (katG S315I)	ADN plásmido		+	+
24	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter - 15T)	ADN plásmido		+	+
25	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter - 8A)	ADN plásmido		+	+
26	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter - 8C)	ADN plásmido		+	+
27	Mycobacterium tuberculosis (gyrA A90V)	ADN plásmido		+	+
28	Mycobacterium tuberculosis (gyrA S91P)	ADN plásmido		+	+
29	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94A)	ADN plásmido		+	+
30	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94G)	ADN plásmido		+	+
31	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94H)	ADN plásmido		+	+
32	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94N)	ADN plásmido		+	+
33	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94Y)	ADN plásmido		+	+
34	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1401G)	ADN plásmido		+	+
35	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1402T)	ADN plásmido		+	+
36	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1484T)	ADN plásmido		+	+
37	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -37T)	ADN plásmido		+	+
38	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -14T)	ADN plásmido		+	+
39	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter - 10A)	ADN plásmido		+	+
40	Mycobacterium abscessus	ATCC	19977D-5	+	-
41	Mycobacterium asiaticum	KCTC	9503	+	-
42	Mycobacterium avium (Chester)	ATCC	700735	+	-
43	Mycobacterium avium subsp. avium	ATCC	25291	+	-
44	Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis	ATCC	19698	+	-
45	Mycobacterium avium subsp. silvaticum	ATCC	49884	+	-
46	Mycobacterium avium subsp. suis	ATCC	19978	+	-
47	Mycobacterium celatum	ATCC	51131	+	-
48	Mycobacterium chelonae	KCTC	9505	+	-
49	Mycobacterium fallax	KCTC	9508	+	-
50	Mycobacterium fortuitum subsp. acetamidolyticum	ATCC	43266	+	-

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
51	Mycobacterium fortuitum subsp. fortuitum	KCTC	1122	+	-
52	Mycobacterium fortuitum subsp. thermophilum	ATCC	27408	+	-
53	Mycobacterium gastri	ATCC	25162	+	-
54	Mycobacterium gordonae	KCTC	9513	+	-
55	Mycobacterium intracellulare	ATCC	25122	+	-
56	Mycobacterium kansasii	KCTC	9515	+	-
57	Mycobacterium lentiflavum	ATCC	51988	+	-
58	Mycobacterium malmoense	ATCC	29571	+	-
59	Mycobacterium marinum	ATCC	BAA535D-5	+	-
60	Mycobacterium massiliense	KCTC	19086	+	-
61	Mycobacterium moriokaense	KCTC	9516	+	-
62	Mycobacterium mucogenicum	KCTC	19088	+	-
63	Mycobacterium neoaurum	KCTC	19096	+	-
64	Mycobacterium nonchromogenicum	ATCC	25265	+	-
65	Mycobacterium phlei	KCTC	9087	+	-
66	Mycobacterium porcinum	KCTC	9517	+	-
67	Mycobacterium seoulense	KCTC	19146	+	-
68	Mycobacterium simiae	ATCC	BAA-1478	+	-
69	Mycobacterium smegmatis	KCTC	9108	+	-
70	Mycobacterium szulgai	KCTC	9520	+	-
71	Mycobacterium terrae	KCTC	9614	+	-
72	Mycobacterium triviale	ATCC	23292	+	-
73	Mycobacterium ulcerans	ATCC	33728	+	-
74	Mycobacterium vaccae	KCTC	19087	+	-
75	Arthrobacter oxydans	KCTC	3383	+	-
76	Arthrobacter woluwensis	KCTC	9905	+	-
77	Corynebacterium amycolatum	KCTC	3432	+	-
78	Corynebacterium aquaticum	KCTC	9098	+	-
79	Corynebacterium diphtheriae	KCTC	3075	+	-
80	Corynebacterium durum	KCTC	19318	+	-

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
81	Corynebacterium flavescens	KCTC	3414	+	-
82	Corynebacterium genitalium	ATCC	33030	+	-
83	Corynebacterium glutamicum	KCTC	1854	+	-
84	Corynebacterium imitans	ATCC	700354	+	-
85	Corynebacterium jeikeium	KCCM	41661	+	-
86	Corynebacterium pseudodiphtheriticum	ATCC	10700	+	-
87	Corynebacterium striatum	ATCC	43751	+	-
88	Corynebacterium tuberculostearicum	ATCC	35692	+	-
89	Corynebacterium ulcerans	ATCC	51799	+	-
90	Corynebacterium xerosis	KCTC	3435	+	-
91	Dietzia sp.	KCTC	19232	+	-
92	Gordonia bronchialis	KCTC	3076	+	-
93	Gordonia polyisoprenivorans	ATCC	BAA-14	+	-
94	Gordonia rubripertincta	ATCC	27864	+	-
95	Gordonia sputi	KCTC	3436	+	-
96	Nocardia abscessus	ATCC	23824	+	-
97	Nocardia asteroides	KCTC	9956	+	-
98	Nocardia blacklockiae	ATCC	BAA-1635	+	-
99	Nocardia brasiliensis	KCTC	9136	+	-
100	Nocardia farcinica	KCTC	9958	+	-
101	Nocardia nova	ATCC	33727	+	-
102	Nocardia pseudobrasiliensis	ATCC	51512	+	-
103	Nocardia transvalensis	ATCC	29982	+	-
104	Nocardia wallacei	ATCC	BAA-1636	+	-
105	Rhodococcus equi	KCTC	1298	+	-
106	Candida albicans	ATCC	7965	+	-
107	Escherichia coli	KCCM	11591	+	-
108	Enterococcus faecalis	ATCC	51299	+	-
109	Enterococcus faecium	ATCC	51559	+	-
110	Haemophilus ducreyi	ATCC	700724D-5	+	-

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MTBe †	
				IC	MTB
111	Pseudomonas aeruginosa	KCTC	47085D	+	-
112	Rothia dentocariosa	KCTC	19319	+	-
113	Streptococcus pneumoniae	KCTC	BAA-255D	+	-
114	Klebsiella pneumoniae	KCCM	40890	+	-
115	Staphylococcus aureus	KCCM	40881	+	-
116	Staphylococcus epidermidis	KCCM	35494	+	-
117	Streptococcus pyogenes	KCCM	40411	+	-
118	Streptococcus mitis	KCTC	3556	+	-
119	Neisseria meningitidis	ATCC	700532D	+	-
120	Bordetella pertussis	ATCC	BAA-589D	+	-
121	Legionella pneumophila	KCCM	41783	+	-
122	Human genomic DNA (500 ng)	Biochain	D1234275	+	-

1.2. MDRe

N°	Organismo	Cepa N°		MDR†		
				IC	INH-R	RIF-R
1	Mycobacterium tuberculosis	KMRC	0110-00007	+	-	-
2	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L511P)	ADN plásmido		+	-	+
3	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513K)	ADN plásmido		+	-	+
4	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513L)	ADN plásmido		+	-	+
5	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513P)	ADN plásmido		+	-	+
6	Mycobacterium tuberculosis (rpoB 3 amino acid deletion in 513~516)	ADN plásmido		+	-	+
7	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516V)	ADN plásmido		+	-	+
8	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516Y)	ADN plásmido		+	-	+
9	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522L)	ADN plásmido		+	-	+
10	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522Q)	ADN plásmido		+	-	+
11	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526C)	ADN plásmido		+	-	+
12	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526D)	ADN plásmido		+	-	+
13	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526L)	ADN plásmido		+	-	+
14	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526N)	ADN plásmido		+	-	+
15	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526R)	ADN plásmido		+	-	+
16	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526Y)	ADN plásmido		+	-	+
17	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531L)	ADN plásmido		+	-	+
18	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531W)	ADN plásmido		+	-	+
19	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L533P)	ADN plásmido		+	-	+
20	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACC))	ADN plásmido		+	+	-
21	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACA))	ADN plásmido		+	+	-
22	Mycobacterium tuberculosis (katG S315N)	ADN plásmido		+	+	-
23	Mycobacterium tuberculosis (katG S315I)	ADN plásmido		+	+	-
24	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -15T)	ADN plásmido		+	+	-

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MDR†		
				IC	INH-R	RIF-R
25	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -8A)	ADN plásmido		+	+	-
26	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -8C)	ADN plásmido		+	+	-
27	Mycobacterium tuberculosis (gyrA A90V)	ADN plásmido		+	-	-
28	Mycobacterium tuberculosis (gyrA S91P)	ADN plásmido		+	-	-
29	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94A)	ADN plásmido		+	-	-
30	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94G)	ADN plásmido		+	-	-
31	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94H)	ADN plásmido		+	-	-
32	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94N)	ADN plásmido		+	-	-
33	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94Y)	ADN plásmido		+	-	-
34	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1401G)	ADN plásmido		+	-	-
35	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1402T)	ADN plásmido		+	-	-
36	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1484T)	ADN plásmido		+	-	-
37	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -37T)	ADN plásmido		+	-	-
38	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -14T)	ADN plásmido		+	-	-
39	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -10A)	ADN plásmido		+	-	-
40	Mycobacterium abscessus	ATCC	19977D-5	+	-	-
41	Mycobacterium asiaticum	KCTC	9503	+	-	-
42	Mycobacterium avium (Chester)	ATCC	700735	+	-	-
43	Mycobacterium avium subsp. avium	ATCC	25291	+	-	-
44	Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis	ATCC	19698	+	-	-
45	Mycobacterium avium subsp. silvaticum	ATCC	49884	+	-	-
46	Mycobacterium avium subsp. suis	ATCC	19978	+	-	-
47	Mycobacterium celatum	ATCC	51131	+	-	-
48	Mycobacterium chelonae	KCTC	9505	+	-	-
49	Mycobacterium fallax	KCTC	9508	+	-	-
50	Mycobacterium fortuitum subsp. acetamidolyticum	ATCC	43266	+	-	-
51	Mycobacterium fortuitum subsp. fortuitum	KCTC	1122	+	-	-
52	Mycobacterium fortuitum subsp. thermophilum	ATCC	27408	+	-	-
53	Mycobacterium gastri	ATCC	25162	+	-	-
54	Mycobacterium gordonae	KCTC	9513	+	-	-
55	Mycobacterium intracellulare	ATCC	25122	+	-	-
56	Mycobacterium kansasii	KCTC	9515	+	-	-
57	Mycobacterium lentiflavum	ATCC	51988	+	-	-

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°	IC	MDR†		
				INH-R	RIF-R	
58	Mycobacterium malmoeense	ATCC	29571	+	-	-
59	Mycobacterium marinum	ATCC	BAA535D-5	+	-	-
60	Mycobacterium massiliense	KCTC	19086	+	-	-
61	Mycobacterium moriokaense	KCTC	9516	+	-	-
62	Mycobacterium mucogenicum	KCTC	19088	+	-	-
63	Mycobacterium neoaurum	KCTC	19096	+	-	-
64	Mycobacterium nonchromogenicum	ATCC	25265	+	-	-
65	Mycobacterium phlei	KCTC	9087	+	-	-
66	Mycobacterium porcinum	KCTC	9517	+	-	-
67	Mycobacterium seoulense	KCTC	19146	+	-	-
68	Mycobacterium simiae	ATCC	BAA-1478	+	-	-
69	Mycobacterium smegmatis	KCTC	9108	+	-	-
70	Mycobacterium szulgai	KCTC	9520	+	-	-
71	Mycobacterium terrae	KCTC	9614	+	-	-
72	Mycobacterium triviale	ATCC	23292	+	-	-
73	Mycobacterium ulcerans	ATCC	33728	+	-	-
74	Mycobacterium vaccae	KCTC	19087	+	-	-
75	Arthrobacter oxydans	KCTC	3383	+	-	-
76	Arthrobacter woluwensis	KCTC	9905	+	-	-
77	Corynebacterium amycolatum	KCTC	3432	+	-	-
78	Corynebacterium aquaticum	KCTC	9098	+	-	-
79	Corynebacterium diphtheriae	KCTC	3075	+	-	-
80	Corynebacterium durum	KCTC	19318	+	-	-
81	Corynebacterium flavescens	KCTC	3414	+	-	-
82	Corynebacterium genitalium	ATCC	33030	+	-	-
83	Corynebacterium glutamicum	KCTC	1854	+	-	-
84	Corynebacterium imitans	ATCC	700354	+	-	-
85	Corynebacterium jeikeium	KCCM	41661	+	-	-
86	Corynebacterium pseudodiphtheriticum	ATCC	10700	+	-	-
87	Corynebacterium striatum	ATCC	43751	+	-	-
88	Corynebacterium tuberculostearicum	ATCC	35692	+	-	-
89	Corynebacterium ulcerans	ATCC	51799	+	-	-
90	Corynebacterium xerosis	KCTC	3435	+	-	-
91	Dietzia sp.	KCTC	19232	+	-	-
92	Gordonia bronchialis	KCTC	3076	+	-	-
93	Gordonia polyisoprenivorans	ATCC	BAA-14	+	-	-
94	Gordonia rubripertincta	ATCC	27864	+	-	-
95	Gordonia sputi	KCTC	3436	+	-	-

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		MDR†		
				IC	INH-R	RIF-R
96	Nocardia abscessus	ATCC	23824	+	-	-
97	Nocardia asteroides	KCTC	9956	+	-	-
98	Nocardia blacklockiae	ATCC	BAA-1635	+	-	-
99	Nocardia brasiliensis	KCTC	9136	+	-	-
100	Nocardia farcinica	KCTC	9958	+	-	-
101	Nocardia nova	ATCC	33727	+	-	-
102	Nocardia pseudobrasiliensis	ATCC	51512	+	-	-
103	Nocardia transvalensis	ATCC	29982	+	-	-
104	Nocardia wallacei	ATCC	BAA-1636	+	-	-
105	Rhodococcus equi	KCTC	1298	+	-	-
106	Candida albicans	ATCC	7965	+	-	-
107	Escherichia coli	KCCM	11591	+	-	-
108	Enterococcus faecalis	ATCC	51299	+	-	-
109	Enterococcus faecium	ATCC	51559	+	-	-
110	Haemophilus ducreyi	ATCC	700724D-5	+	-	-
111	Pseudomonas aeruginosa	KCTC	47085D	+	-	-
112	Rothia dentocariosa	KCTC	19319	+	-	-
113	Streptococcus pneumoniae	KCTC	BAA-255D	+	-	-
114	Klebsiella pneumoniae	KCCM	40890	+	-	-
115	Staphylococcus aureus	KCCM	40881	+	-	-
116	Staphylococcus epidermidis	KCCM	35494	+	-	-
117	Streptococcus pyogenes	KCCM	40411	+	-	-
118	Streptococcus mitis	KCTC	3556	+	-	-
119	Neisseria meningitidis	ATCC	700532D	+	-	-
120	Bordetella pertussis	ATCC	BAA-589D	+	-	-
121	Legionella pneumophila	KCCM	41783	+	-	-
122	Human genomic DNA (500 ng)	Biochain	D1234275	+	-	-

1.3. XDRe

N°	Organismo	Cepa N°		XDR†		
				IC	FQ-R	Inj. drug-R
1	Mycobacterium tuberculosis	KMRC	0110-00007	+	-	-
2	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L511P)	ADN plásmido		+	-	-
3	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513K)	ADN plásmido		+	-	-
4	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513L)	ADN plásmido		+	-	-
5	Mycobacterium tuberculosis (rpoB Q513P)	ADN plásmido		+	-	-
6	Mycobacterium tuberculosis (rpoB 3 amino acid deletion in 513~516)	ADN plásmido		+	-	-
7	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516V)	ADN plásmido		+	-	-
8	Mycobacterium tuberculosis (rpoB D516Y)	ADN plásmido		+	-	-
9	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522L)	ADN plásmido		+	-	-
10	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S522Q)	ADN plásmido		+	-	-
11	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526C)	ADN plásmido		+	-	-
12	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526D)	ADN plásmido		+	-	-

N°	Organismo	Cepa N°		XDR [†]		
				IC	FQ-R	Inj. drug-R
13	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526L)	ADN plásmido		+	-	-
14	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526N)	ADN plásmido		+	-	-
15	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526R)	ADN plásmido		+	-	-
16	Mycobacterium tuberculosis (rpoB H526Y)	ADN plásmido		+	-	-
17	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531L)	ADN plásmido		+	-	-
18	Mycobacterium tuberculosis (rpoB S531W)	ADN plásmido		+	-	-
19	Mycobacterium tuberculosis (rpoB L533P)	ADN plásmido		+	-	-
20	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACC))	ADN plásmido		+	-	-
21	Mycobacterium tuberculosis (katG S315T(ACA))	ADN plásmido		+	-	-
22	Mycobacterium tuberculosis (katG S315N)	ADN plásmido		+	-	-
23	Mycobacterium tuberculosis (katG S315I)	ADN plásmido		+	-	-
24	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -15T)	ADN plásmido		+	-	-
25	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -8A)	ADN plásmido		+	-	-
26	Mycobacterium tuberculosis (inhA promoter -8C)	ADN plásmido		+	-	-
27	Mycobacterium tuberculosis (gyrA A90V)	ADN plásmido		+	+	-
28	Mycobacterium tuberculosis (gyrA S91P)	ADN plásmido		+	+	-
29	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94A)	ADN plásmido		+	+	-
30	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94G)	ADN plásmido		+	+	-
31	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94H)	ADN plásmido		+	+	-
32	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94N)	ADN plásmido		+	+	-
33	Mycobacterium tuberculosis (gyrA D94Y)	ADN plásmido		+	+	-
34	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1401G)	ADN plásmido		+	-	+
35	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1402T)	ADN plásmido		+	-	+
36	Mycobacterium tuberculosis (rrs 1484T)	ADN plásmido		+	-	+
37	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -37T)	ADN plásmido		+	-	+
38	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -14T)	ADN plásmido		+	-	+
39	Mycobacterium tuberculosis (eis promoter -10A)	ADN plásmido		+	-	+
40	Mycobacterium abscessus	ATCC	19977D-5	+	-	-
41	Mycobacterium asiaticum	KCTC	9503	+	-	-
42	Mycobacterium avium (Chester)	ATCC	700735	+	-	-
43	Mycobacterium avium subsp. avium	ATCC	25291	+	-	-
44	Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis	ATCC	19698	+	-	-
45	Mycobacterium avium subsp. silvaticum	ATCC	49884	+	-	-
46	Mycobacterium avium subsp. suis	ATCC	19978	+	-	-
47	Mycobacterium celatum	ATCC	51131	+	-	-

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°		XDR†		
				IC	FQ-R	Inj. drug-R
48	Mycobacterium chelonae	KCTC	9505	+	-	-
49	Mycobacterium fallax	KCTC	9508	+	-	-
50	Mycobacterium fortuitum subsp. acetamidolyticum	ATCC	43266	+	-	-
51	Mycobacterium fortuitum subsp. fortuitum	KCTC	1122	+	-	-
52	Mycobacterium fortuitum subsp. thermophilum	ATCC	27408	+	-	-
53	Mycobacterium gastri	ATCC	25162	+	-	-
54	Mycobacterium goodii	KCTC	9513	+	-	-
55	Mycobacterium intracellulare	ATCC	25122	+	-	-
56	Mycobacterium kansasii	KCTC	9515	+	-	-
57	Mycobacterium lentiflavum	ATCC	51988	+	-	-
58	Mycobacterium malmoense	ATCC	29571	+	-	-
59	Mycobacterium marinum	ATCC	BAA535D-5	+	-	-
60	Mycobacterium massiliense	KCTC	19086	+	-	-
61	Mycobacterium moriokaense	KCTC	9516	+	-	-
62	Mycobacterium mucogenicum	KCTC	19088	+	-	-
63	Mycobacterium neoaurum	KCTC	19096	+	-	-
64	Mycobacterium nonchromogenicum	ATCC	25265	+	-	-
65	Mycobacterium phlei	KCTC	9087	+	-	-
66	Mycobacterium porcinum	KCTC	9517	+	-	-
67	Mycobacterium seoulense	KCTC	19146	+	-	-
68	Mycobacterium simiae	ATCC	BAA-1478	+	-	-
69	Mycobacterium smegmatis	KCTC	9108	+	-	-
70	Mycobacterium szulgai	KCTC	9520	+	-	-
71	Mycobacterium terrae	KCTC	9614	+	-	-
72	Mycobacterium triviale	ATCC	23292	+	-	-
73	Mycobacterium ulcerans	ATCC	33728	+	-	-
74	Mycobacterium vaccae	KCTC	19087	+	-	-
75	Arthrobacter oxydans	KCTC	3383	+	-	-
76	Arthrobacter woluwensis	KCTC	9905	+	-	-
77	Corynebacterium amycolatum	KCTC	3432	+	-	-
78	Corynebacterium aquaticum	KCTC	9098	+	-	-
79	Corynebacterium diphtheriae	KCTC	3075	+	-	-
80	Corynebacterium durum	KCTC	19318	+	-	-
81	Corynebacterium flavescens	KCTC	3414	+	-	-
82	Corynebacterium genitalium	ATCC	33030	+	-	-
83	Corynebacterium glutamicum	KCTC	1854	+	-	-
84	Corynebacterium imitans	ATCC	700354	+	-	-
85	Corynebacterium jeikeium	KCCM	41661	+	-	-
86	Corynebacterium pseudodiphtheriticum	ATCC	10700	+	-	-
87	Corynebacterium striatum	ATCC	43751	+	-	-
88	Corynebacterium tuberculostearicum	ATCC	35692	+	-	-
89	Corynebacterium ulcerans	ATCC	51799	+	-	-
90	Corynebacterium xerosis	KCTC	3435	+	-	-

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°	Organismo	Cepa N°	XDR†			
			IC	FQ-R	Inj. drug-R	
91	Dietzia sp.	KCTC	19232	+	-	-
92	Gordonia bronchialis	KCTC	3076	+	-	-
93	Gordonia polyisoprenivorans	ATCC	BAA-14	+	-	-
94	Gordonia rubripertincta	ATCC	27864	+	-	-
95	Gordonia sputi	KCTC	3436	+	-	-
96	Nocardia abscessus	ATCC	23824	+	-	-
97	Nocardia asteroides	KCTC	9956	+	-	-
98	Nocardia blacklockiae	ATCC	BAA-1635	+	-	-
99	Nocardia brasiliensis	KCTC	9136	+	-	-
100	Nocardia farcinica	KCTC	9958	+	-	-
101	Nocardia nova	ATCC	33727	+	-	-
102	Nocardia pseudobrasiliensis	ATCC	51512	+	-	-
103	Nocardia transvalensis	ATCC	29982	+	-	-
104	Nocardia wallacei	ATCC	BAA-1636	+	-	-
105	Rhodococcus equi	KCTC	1298	+	-	-
106	Candida albicans	ATCC	7965	+	-	-
107	Escherichia coli	KCCM	11591	+	-	-
108	Enterococcus faecalis	ATCC	51299	+	-	-
109	Enterococcus faecium	ATCC	51559	+	-	-
110	Haemophilus ducreyi	ATCC	700724D-5	+	-	-
111	Pseudomonas aeruginosa	KCTC	47085D	+	-	-
112	Rothia dentocariosa	KCTC	19319	+	-	-
113	Streptococcus pneumoniae	KCTC	BAA-255D	+	-	-
114	Klebsiella pneumoniae	KCCM	40890	+	-	-
115	Staphylococcus aureus	KCCM	40881	+	-	-
116	Staphylococcus epidermidis	KCCM	35494	+	-	-
117	Streptococcus pyogenes	KCCM	40411	+	-	-
118	Streptococcus mitis	KCTC	3556	+	-	-
119	Neisseria meningitidis	ATCC	700532D	+	-	-
120	Bordetella pertussis	ATCC	BAA-589D	+	-	-
121	Legionella pneumophila	KCCM	41783	+	-	-
122	Human genomic DNA (500 ng)	Biochain	D1234275	+	-	-

※ ATCC: American Type Culture Collection

KCTC: Colección Coreana para Cultura Tipográfica

KBPV: Banco de Corea para Virus Patógenos

KCCM: Centro de Cultura Coreana de Microorganismos

† Las pruebas de especificidad se repitieron 3 veces.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Sensibilidad

La sensibilidad se define como la concentración más baja de microorganismos que se puede detectar de manera consistente ($\geq 95\%$ de resultados positivos entre todas las muestras analizadas).

La sensibilidad del Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection se determinó utilizando ADN plasmídico (de 10^4 a 10^0 copias / reacción). El límite de detección para el Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection fue de 20 copias / reacción.

El Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection se dirige a los genes mpb64 e IS6110 en cepas de MTB. En presencia de múltiples copias de la secuencia IS6110 en cepas de MTB, se mejoró la sensibilidad de las pruebas de PCR. El analito MTB de Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection detectó hasta 10 copias / reacción cuando hay múltiples copias de la secuencia IS6110 presentes en la cepa MTB.

3. Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad de Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection entre sitios, lotes de productos, experimentadores y puntos de tiempo utilizando 3 muestras de concentración de cada analito.

Las tasas positivas por concentración cumplieron los criterios de detección (100% para muestras positivas moderadas, $\geq 95\%$ para muestras positivas bajas y $< 95\%$ o no detectadas para muestras negativas altas).

Los resultados fueron satisfechos con el conjunto de Criterios, lo que confirma el rendimiento reproducible de Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se realizó utilizando sustancias interferentes compuestas por 8 sustancias con el fin de confirmar el rendimiento de la detección Allplex™ MTB / MDR / XDRe en presencia de posibles sustancias interferentes. No hubo ningún efecto sobre el resultado al agregar las sustancias: detección no específica o inhibición de la amplificación del objetivo. Según los resultados, 8 sustancias interferentes no tuvieron ningún efecto en los resultados de la detección Allplex™ MTB / MDR / XDRe.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

N°.	Sustancias interferentes	Concentración
1	Mucina (glándula submaxilar bovina, tipo I-S)	60 µg/ml
2	Mupirocina (antibiótico, ungüento nasal)	6.6 mg/ml
3	Tobramicina (antibacteriana, sistémica)	4.0 µg/ml
4	Oximetazolina (aerosol nasal Afrin)	15% (v/v)
5	Zanamivir (fármaco anti-viral-Relenza)	3.3 mg/ml
6	Oseltamivir (fármaco antiviral-Tamiflu)	25 mg/ml
7	Isoniazida	50 µg/ml
8	Rifampicina	25 µg/ml

5. Estudio clínico

Se analizaron un total de 108 muestras clínicas con el ensayo de referencia y el Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection.

La tasa de concordancia de MTB, RIF-R, INH-R1, INH-R2, FQ-R, Inj. droga-R1, Inj. fármaco-R2 e Inj. fármaco-R3 debe ser superior al 95%. Esta prueba de comparación muestra una tasa de concordancia del 100% en muestras clínicas entre el Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection y el ensayo de referencia. Por lo tanto, se confirma que la calidad del Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection es válida.

Analito	Sensibilidad (en comparación con el ensayo de referencia)			Especificidad (en comparación con el ensayo de referencia)		
	TP/ (TP+FN)	% ^{a)}	95% CI ^{d)}	TN/ (TN+FP)	% ^{b)}	95% CI ^{d)}
MTB	96/96	100	97.3~100.0	12/12	100	78.6~100.0
RIF-R	80/80	100	96.7~100.0	16/16	100	83.6~100.0
INH-R1	59/59	100	95.4~100.0	37/37	100	92.7~100.0
INH-R2	29/29	100	90.7~100.0	67/67	100	96.0~100.0
FQ-R	40/40	100	93.2~100.0	56/56	100	95.1~100.0
Inj. drug-R1	7/7	100	65.7~100.0	89/89	100	97.3~100.0
Inj. drug-R2	41/41	100	93.4~100.0	55/55	100	95.1~100.0
Inj. drug-R3	0/0	-	-	96/96	100	100

a) Sensibilidad: $100 \times TP / (TP + FN)$

b) Especificidad: $100 \times TN / (FP + TN)$

c) Se calcularon los intervalos de confianza del 95% bilaterales.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REFERENCIAS

1. Chun, J. Y., Kim, K. J., Hwang, I. T., Kim, Y. J., Lee, D. H., and Lee, I. K. [Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene] *Nucleic Acids Res.* (2007) 35: e40
2. Da Silva, P. E. A. and Palomino, J. C. [Molecular basis and mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: classical and new drugs] *J. Antimicrob. Chemother.* (2011) 66: 1417-1430
3. Georghiou, S. B., Magana, M., Garfein, R. S., Catanzaro, D. G., Catanzaro, A., and Rodwell, T. C. [Evaluation of genetic mutations associated with *Mycobacterium tuberculosis* resistance to amikacin, kanamycin and capreomycin: a systematic review] *PLoS ONE* (2012) 7(3): e33275
4. Gikalo, M. B., Nosoca, E. Y., Krylova, L. Y., Moroz, A. M. [The role of eis mutations in the development of kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from the Moscow region] *J. Antimicrob. Chemother.* (2012) 67(9): 2017-2109
5. Johnson, R., Streicher, E. M., Louw, G. E., Warren, R. M., van Helden, P. D., and Victor, T. C. [Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*] *Curr. Issues Mol. Biol.* (2006) 8(2): 97-111
6. Maus, C. E., Plikaytis, B. B., and Shinnick, T. M. [Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in *Mycobacterium tuberculosis*] *Antimicrob. Agents Chemother.* (2005) 49(8): 3192-3197
7. Medappa, N. and Srivastava, V. K. [What is new in the diagnosis of tuberculosis?] *ICMR Bulletin* (2002) 32
8. Merza, M. and Masjedi, M. R. [Extensively drug resistant tuberculosis (XDR) and extremely drug resistant tuberculosis (XXDR): risk factors and molecular perspectives] *Iranian J. Clin. Infect. Dis.* (2010) 5(3): 174-188
9. Migliori, G. B., Dheda, K., Centis, R., Mwaba, P., Bates, M., O'Grady, J., Hoelscher, M., and Zumla, A. [Review of multidrug-resistant and extensively drug-resistant TB: global perspectives with a focus on sub-Saharan Africa] *Trop. Med. Int. Health* (2010) 15(9): 1052-1066
10. Qi, Y. C., Ma, M. J., Li, D. J., Chen, M. J., Lu, Q. B., Li, X. J., Li, J. L., Liu, W., and Cao, W. C. [Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in multi-ethnic region, Xinjiang Uygur Autonomous region, China] *PLoS ONE* (2012) 7(2): e32103
11. Santos, L. C. [Review: the molecular basis of resistance in *Mycobacterium tuberculosis*] *J. Med. Microbiol.* (2012) 2(1): 24-36
12. Yuan, X., Zhang, T., Kawakami, K., Zhu, J., Li, H., Lei, J., and Tu, S. [Molecular characterization of multidrug and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in Jiangxi, China] *J. Clin. Microbiol.* (2012) 50(7): 2403-2413
13. World Health Organization. [Global tuberculosis control] WHO Report (2011) WHO/HTM/TB/2011.16







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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

14. World Health Organization. [Towards universal access to diagnosis and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis by 2015] WHO Progress Report (2011) WHO/HTM/TB/2011.3

SÍMBOLOS

Leyenda de los símbolos utilizados en el manual y las etiquetas

Símbolo	Explicación
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
	Utilizar por fecha
	Límite superior de temperatura
PRIMER	Mezcla de oligonucleótidos para amplificación y detección
PREMIX	PCR Master Mix o Detection Mix
WATER	Agua libre de ARNasa
DNA ES	Solución de extracción de ADN
CONTROL +	Control positivo (PC)
CONTROL IC	Control interno (IC)
CONTROL W	Control de tipo salvaje (WTC)
	Fabricante
	Fecha de manufactura
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea.
	Consultar instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> pruebas

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN SOBRE PEDIDOS

Cat. No.	Producto	Tamaño
Allplex™ TB series		
TB10173Y	Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection	50 rxns
TB10174X	Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection	100 rxns*
TB9400Y	Allplex™ MTB/MDRe Detection	50 rxns
TB9400X	Allplex™ MTB/MDRe Detection	100 rxns*
TB9500Y	Allplex™ MTB/XDRe Detection	50 rxns
TB9500X	Allplex™ MTB/XDRe Detection	100 rxns*

* Solo para uso con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet

Anyplex™ II TB series

TB7500Y	Anyplex™ II MTB/MDR/XDR Detection	50 rxns
TB7301Y	Anyplex™ II MTB/MDR Detection	100 rxns*
TB7302Y	Anyplex™ II MTB/XDR Detection	50 rxns

Anyplex™ TB series

TB7200X	Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection (V2.0)	100 rxns
TB7202Y	Anyplex™ MTB/NTMe Real-time Detection	50 rxns
TB7202X	Anyplex™ MTB/NTMe Real-time Detection	100 rxns*
TB7203Y	Anyplex™ MTB/NTM Combi	50 rxns
TB7203X	Anyplex™ MTB/NTM Combi	100 rxns*

* Solo para uso con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet

Seeplex® TB series

TB2110Y	Seeplex® MTB Nested ACE Detection (V2.3)	50 rxns
---------	--	---------

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Sistemas de extracción automatizados


65415-02	Microlab NIMBUS IVD	EA
173000-075	Microlab STARlet IVD	EA
65415-03	Seegene NIMBUS	EA
67930-03	Seegene STARlet	EA
744300.4.UC384	STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	384T / 1box



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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.


ROTULOS "Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection"

Rotulo Externo "Allplex™ MTB/MDR/XDRe Deteccion (TB10173Y)"







Allplex™  


**MTB/MDR/XDRe
Detection**


REF TB10173Y  50

LOT TB4418E01

    -20°C

2019-04-30 2018-05-01

 **EC REP** **MT Promedt Consulting GmbH**
Altenhofstrasse 80, D-66386
St. Ingbert, Germany



Allplex™
MTB/MDR/XDRe Detection

(01) 08809240101735 (11) 180501
(17) 190430 (10) TB4418E01 (21) 0001



Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu,
Seoul, Republic of Korea, 05548

www.seegene.com



Allplex™

Seegene Inc.

Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul,
Republic of Korea, 05548
TEL : +82-2-2240-4000 / FAX : +82-2-2240-4040
E-mail : info@seegene.com
www.seegene.com

 **Seegene**

Next Generation of Real-time PCR

Importado por

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT N°: PM-626-168

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos "Allplex™ MTB/MDR/XDRe Deteccion (TB10173Y)"

Allplex™
MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

MTBe TOM **PRIMER**

🕒 YYYY-MM-DD 250 µL ⓘ -20°C

LOT TB10173Y TB TOM-XXXX

Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**



Allplex™
MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

MDRe TOM **PRIMER**

🕒 YYYY-MM-DD 250 µL ⓘ -20°C

LOT TB10173Y M TOM-XXXX

Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**



Allplex™
MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

XDRe TOM **PRIMER**

🕒 YYYY-MM-DD 250 µL ⓘ -20°C

LOT TB10173Y X TOM-XXXX

Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**




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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

EM1

🕒 YYYY-MM-DD 250 µL  -20°C
LOT PEB-XXXX **PREMIX**
 Seegene Inc. 




 Seegene

Allplex™

MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

MTB/DRe PC

CONTROL +

🕒 YYYY-MM-DD 150 µL   -20°C
LOT TB10173Y PC-XXXX
 Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**




 Seegene

Allplex™

MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

MTB/DRe IC

CONTROL IC

🕒 YYYY-MM-DD 500 µL   -20°C
LOT TB10173Y IC-XXXX
 Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**

 Seegene

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

MTB/DRe WTC

CONTROL

W

YYYY-MM-DD 150 µL   -20°C

LOT TB10173Y WTC-XXXX

Seegene Inc.

EC REP MT Promedt IVD

 Seegene

RNase-free Water

WATER

YYYY-MM-DD 1 mL  -20°C

LOT RW-XXXX


Seegene Inc.



 Seegene

DNA Extraction Solution

DNA ES

YYYY-MM-DD 10 mL  -20°C

LOT DES 10-XXXX

Seegene Inc.



 Seegene

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rotulo Externo "Allplex™ MTB/MDR/XDRe Deteccion (TB10174X)"



Allplex™



**MTB/MDR/XDRe
Detection**

(01) 08809240101742 (11) 180501
(17) 190430 (10) TB4518E01 (21) 0001

REF TB10174X Σ 100

LOT TB4518E01



2019-04-30



2018-05-01

EC REP

MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, D-66386
St. Ingbert, Germany



Allplex™
MTB/MDR/XDRe Detection
(only for NIMBUS, STARlet)



Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu,
Seoul, Republic of Korea, 05548

www.seegene.com



Allplex™

Seegene Inc.

Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul,
Republic of Korea, 05548
TEL : +82-2-2240-4000 / FAX : +82-2-2240-4040
E-mail : info@seegene.com
www.seegene.com

Seegene

Next Generation of Real-time PCR

Importado por

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT N°: PM-626-168

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos "Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detecion (TB10174X)"

Allplex™
MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

MTBe TOM **PRIMER**

🕒 YYYY-MM-DD 500 µL ⓘ 🧊 -20°C

📦 **LOT** TB10174X TB TOM-XXXX

🏢 Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**



Allplex™
MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

MDRe TOM **PRIMER**

🕒 YYYY-MM-DD 500 µL ⓘ 🧊 -20°C

📦 **LOT** TB10174X M TOM-XXXX

🏢 Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**



Allplex™
MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

XDRe TOM **PRIMER**

🕒 YYYY-MM-DD 500 µL ⓘ 🧊 -20°C

📦 **LOT** TB10174X X TOM-XXXX

🏢 Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**



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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

EM1

🕒 YYYY-MM-DD 500 µL 🧊 -20°C
📦 LOT PEC-XXXX **PREMIX**
🏢 Seegene Inc. 📖 i



Allplex™

**MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection**

MTB/DRe PC

CONTROL +

🕒 YYYY-MM-DD 300 µL 📖 i 🧊 -20°C
📦 LOT TB10174X PC-XXXX
🏢 Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**



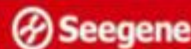
Allplex™

**MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection**

MTB/DRe IC

CONTROL IC

🕒 YYYY-MM-DD 1,000 µL 📖 i 🧊 -20°C
📦 LOT TB10174X IC-XXXX
🏢 Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**



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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™


MTB/MDRe, MTB/XDRe,
MTB/MDR/XDRe Detection

MTB/DRe WTC

CONTROL


W

⌚ YYYY-MM-DD 300 µL   -20°C

 TB10174X WTC-XXXX

 Seegene Inc.

 MT Promedt 

 Seegene

RNase-free Water


WATER

⌚ YYYY-MM-DD 1 mL  -20°C

 RWA-XXXX

 Seegene Inc.




 Seegene


DNA Extraction Solution

DNA


ES

⌚ YYYY-MM-DD 10 mL  -20°C

 DES 10-XXXX

 Seegene Inc.



 Seegene

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

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

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 134 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.01.25 07:39:37 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.01.25 07:39:39 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005445-22-8

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

Expediente Nº 1-0047-3110-005445-22-8

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection

Marca comercial: Seegene

Modelos:

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, (Ref.: TB10173Y) para 50 reacciones.

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, (Ref.: TB10174X) para 100 reacciones.

Indicación/es de uso:

Allplex™ MTB / MDR / XDRe Detection es una prueba cualitativa in vitro para la detección única o múltiple de

Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a los fármacos antituberculosos de primera línea (isoniazida y rifampicina) y a los fármacos antituberculosos de segunda línea (fluoroquinolonas y fármacos inyectables) de muestras de esputo, cultivo o lavado bronquial de pacientes sintomáticos.

Forma de presentación: Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, (Ref.: TB10173Y) para 50 reacciones:

- MTBe TOM (1 x 250 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- MDRe TOM (1 x 250 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- XDRe TOM (1 x 250 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM1 (3 x 250 µL) ADN Polimerasa; UDG Uracil DNA Glicosilasa; Tampon conteniendo dNTPS.
- MTB/DRe PC (1 x 150 µL) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos.
- MTB/DRe IC (1 x 500 µL) Control interno exógeno (CI).
- MTB/DRe WTC (1 x 150 µL) Control de tipo salvaje (WTC): Mezcla de clones de MTB de tipo salvaje
- RNase-free Water (3 x 1,000 µL) Calidad ultrapura, grado PCR.
- Solución de extracción de ADN (1 x 10 mL) Reactivo para extracción de ADN bacteriano.

Allplex™ MTB/MDR/XDRe Detection, (Ref.: TB10174X) para 100 reacciones:

- MTBe TOM (1 x 500 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- MDRe TOM (1 x 500 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- XDRe TOM (1 x 500 µL) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM1 (3 x 500 µL) ADN Polimerasa; UDG Uracil DNA Glicosilasa; Tampon conteniendo dNTPS.
- MTB/DRe PC (1 x 300 µL) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos.
- MTB/DRe IC (1 x 1000 µL) Control interno exógeno (CI).
- MTB/DRe WTC (1 x 300 µL) Control de tipo salvaje (WTC): Mezcla de clones de MTB de tipo salvaje
- RNase-free Water (3 x 1,000 µL) Calidad ultrapura, grado PCR.
- Solución de extracción de ADN (2 x 10 mL) Reactivo para extracción de ADN bacteriano.

Período de vida útil: Este producto tiene estabilidad para usarse durante 12 meses, conservado a (-20 °C).

Nombre del fabricante:

Seegene Inc.

Lugar de elaboración:

Seegene Inc. / Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul 05548, República de Corea.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 626-168 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-005445-22-8

N° Identificadorio Trámite: 41287

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.06.01 14:42:29 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.06.01 14:42:29 -03:00