



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005450-22-4

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-005450-22-4 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones BioSystems S.A. solicita autorización para la venta de Productos para diagnóstico in vitro denominado: Nombre descriptivo: Allplex™ Meningitis-V1 Assay.

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

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

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

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

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

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Nombre descriptivo: Allplex™ Meningitis-V1 Assay, de acuerdo con lo solicitado por BioSystems S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2023-54062444-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 626-169 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5º.- 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™ Meningitis-V1 Assay

Marca comercial: Seegene

Indicación/es de uso:

Allplex™ Meningitis-V1 Assay es una prueba cualitativa in vitro para la detección única o múltiple del Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), y Human herpes virus 7 (HHV7) a partir de muestras del líquido cerebroespinal (CSF).

Modelos:

Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG9700X para 100 reacciones).

Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG9700Y para 50 reacciones).

Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG10209Z para 25 reacciones).

Forma de presentación: Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG9700X para 100 reacciones)

- MG-V1 MOM (1 x 500 µL) Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM4 (1 x 500 µL) Polimerasa de DNA; Uracil-DNA glicosilasa (UDG); Tampón que contiene dNTPs.
- EM4 Buffer (1 x 500 µL) Tampón para PCR en tiempo real: Tampón que contiene BSA y glicerol.
- MG-V1 PC (1 x 50 µL) Control Positivo (PC): Mezcla de patógenos y clones IC.

- MG-V1 IC (1 x 1000 μ L) Control Interno (IC) exógeno.
- RNase-free Water (1 x 1000 μ L) Calidad ultrapura, grado PCR.

Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG9700Y para 50 reacciones)

- MG-V1 MOM (1 x 250 μ L) Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM4 (1 x 250 μ L) Polimerasa de DNA; Uracil-DNA glicosilasa (UDG); Tampón que contiene dNTPs.
- EM4 Buffer (1 x 250 μ L) Tampón para PCR en tiempo real: Tampón que contiene BSA y glicerol.
- MG-V1 PC (1 x 25 μ L) Control Positivo (PC): Mezcla de patógenos y clones IC.
- MG-V1 IC (1 x 500 μ L) Control Interno (IC) exógeno.
- RNase-free Water (1 x 1000 μ L) Calidad ultrapura, grado PCR.

Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG10209Z para 25 reacciones)

- MG-V1 MOM (1 x 125 μ L) Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM4 (1 x 125 μ L) Polimerasa de DNA; Uracil-DNA glicosilasa (UDG); Tampón que contiene dNTPs.
- EM4 Buffer (1 x 125 μ L) Tampón para PCR en tiempo real: Tampón que contiene BSA y glicerol.
- MG-V1 PC (1 x 50 μ L) Control Positivo (PC): Mezcla de patógenos y clones IC.
- MG-V1 IC (1 x 250 μ L) Control Interno (IC) exógeno.
- RNase-free Water (1 x 1000 μ L) Calidad ultrapura, grado PCR

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° 1-0047-3110-005450-22-4

N° Identificador Trámite: 41292

AM

Allplex™

Meningitis-V1 Assay

(Núm. Cat. MG9700X, MG10209Z)

Un ensayo PCR múltiplex en tiempo real para la detección del Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), y Human herpes virus 7 (HHV7) a partir del líquido cefalorraquídeo (CSF).

Para usar con

1. Microlab NIMBUS IVD y Microlab STARlet IVD
2. Seegene NIMBUS y 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)



Solo para diagnóstico *in vitro*



MG9700X



100



MG10209Z



25



Seegene Inc.,

Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seúl, República de Corea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Alemania

No está disponible en Estados Unidos

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ÍNDICE

AVISOS -----	3
USO PREVISTO -----	4
PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS -----	5
INFORMACIÓN GENERAL -----	6
REACTIVOS -----	7
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN -----	9
MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS -----	9
PROTOCOLO -----	10
CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS -----	15
RESULTADOS -----	35
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS -----	40
RENDIMIENTO -----	42
REFERENCIAS -----	49
SÍMBOLOS -----	50
INFORMACIÓN DE PEDIDO -----	51

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

AVISOS

- Solo para diagnóstico *in vitro*.
- La fiabilidad de los resultados depende de que las muestras sean adecuadamente recolectadas, almacenadas, transportadas y procesadas.
- **Utilice este producto solamente con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet para un máximo de 5 pruebas separadas.**
- **Esta prueba ha sido aprobada para los siguientes tipos de muestras: Líquido cerebroespinal (CSF).** Esta prueba no ha sido aprobada para ningún otro tipo de muestra.
- **Almacene las muestras de DNA a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ hasta que se vayan a usar y consérvelas sobre hielo durante su uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede disminuir si las muestras se congelan y descongelan repetidas veces o si se almacenan durante mucho tiempo.
- El flujo de trabajo en el laboratorio debería desarrollarse de manera unidireccional.
- En todo momento deben usarse guantes desechables en cada zona y cambiarlos antes de entrar en las diferentes zonas. En caso de que se contaminen, se deben cambiar inmediatamente o tratar con un reactivo descontaminante de DNA.
- Los suministros y equipos deben ser asignados a cada área de trabajo y no se deben intercambiar entre una y otra área.
- No se debe pipetear con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las zonas de trabajo del laboratorio. Al manipular las muestras y reactivos, han de llevarse guantes sin talco desechables, bata de laboratorio y protección en los ojos. Deben lavarse bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de la prueba.
- Evite contaminar los reactivos al quitar las partes alícuotas de los tubos de reactivos. Se recomienda usar puntas de pipeta desechables estériles, resistentes a los aerosoles.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
- No use el producto después de su fecha de caducidad.
- No reúse los elementos desechables.
- Use tubos con tapa de rosca y evite cualquier posible salpicadura o contaminación cruzada de las muestras durante la preparación.
- Por favor, 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 utilizar puntas con filtro.
- Use zonas de trabajo separadas y segregadas para cada experimento.
- Para evitar la contaminación de áreas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos de reacción o cintas PCR solamente en las áreas de trabajo asignadas, después de la amplificación.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Los materiales positivos se han de almacenar separados de los reactivos del kit.
- Deben adoptarse los procedimientos de seguridad de laboratorio (consulte los documentos de Bioseguridad en los laboratorios microbiológicos y biomédicos y CLSI) al manipular las muestras. Limpie y desinfecte exhaustivamente 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) se pueden considerar como residuos de laboratorio. Deseche los reactivos sin utilizar y los residuos conforme a las normativas nacionales, regionales y locales de aplicación.
- La fecha de caducidad es de 12 meses desde la fecha de fabricación, a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Por favor, consulte la etiqueta para comprobar la fecha de caducidad.
- El Seegene NIMBUS y el Seegene STARlet son los mismos equipos que el Microlab NIMBUS IVD y el Microlab STARlet IVD, solo que el fabricante es distinto. Ya que no existen cambios en el hardware del dispositivo, los resultados de las pruebas son iguales.
- El nombre de la marca “CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD” pasó a ser “CFX96™ Dx System”. Ya que no se hicieron cambios al hardware del sistema, se espera que se obtengan los mismos resultados con ambos sistemas.
- El “CFX Manager™ Dx Software v3.1” es la versión actualizada del “CFX Manager™ Software-IVD v1.6”. El software actualizado incluye mejoras al menú “Run” (Ejecutar). Estas mejoras no afectan los resultados del análisis de datos; por lo que los resultados serán los mismos.
- Este kit está destinado a asistir en el diagnóstico diferencial de las infecciones por patógenos objetivo;
Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), y Human herpes virus 7 (HHV7).

USO PREVISTO

Allplex™ Meningitis-V1 Assay es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección única o múltiple del Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), y Human herpes virus 7 (HHV7) a partir de muestras del líquido cerebroespinal (CSF).

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS**1. Principios**

Allplex™ Meningitis-V1 Assay presenta tecnología MuDT™ propiedad de Seegene, que permite proporcionar valores multi-C_t (ciclo umbral) en un único canal de fluorescencia sin análisis de curva de fusión en instrumentos PCR en tiempo real.

Allplex™ Meningitis-V1 Assay es un ensayo PCR múltiplex en tiempo real que permite la amplificación y detección simultánea de ácidos nucleicos diana del Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), Human herpes virus 7 (HHV7) y Control Interno (IC). La presencia de una secuencia de genes específicos en la reacción se notifica como un valor C_t a través del software de análisis Seegene Viewer.

Se utiliza un gen exógeno como Control Interno (IC) para supervisar todo el proceso de recogida de muestras, extracción de ácido nucleico y constatar cualquier posible inhibición de la PCR.

Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, se utiliza un sistema de Uracil-DNA glicosilasa (UDG)-dUTP en Allplex™ Meningitis-V1 Assay. El sistema UDG-dUTP se usa comúnmente cuando se realiza una PCR para eliminar los amplicones sobrantes usando escisiones por UDG de residuos de uracilo desde el DNA mediante la escisión del enlace N-glicosílicos.

2. Información sobre el procedimiento

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN GENERAL

La meningitis es una inflamación de las membranas protectoras que cubren el cerebro y la médula espinal. La inflamación puede ser causada por una infección con virus, bacterias u otros microorganismos y, con menor frecuencia, por ciertas drogas. Una infección bacteriana o viral del líquido que rodea el cerebro y la médula espinal generalmente causa la inflamación. La meningitis bacteriana es una afección potencialmente mortal que requiere reconocimiento y tratamiento oportunos. En la etapa inicial de la infección, no hay indicadores clínicos confiables disponibles para diferenciar entre dos tipos distintos de meningitis, por lo que todos los casos sospechosos deben remitirse al hospital. Con el fin de minimizar las prescripciones innecesarias de antibióticos y determinar el curso correcto del tratamiento, es muy importante identificar en una etapa temprana si la meningitis es causada por una infección viral o por una bacteriana.


Las bacterias alcanzan el espacio subaracnoideo por vía hematológica y pueden llegar directamente a las meninges en pacientes con un foco de infección parameningeo. Una vez que los patógenos ingresan al espacio subaracnoideo, el ácido lipoteicoico y otros productos de la pared celular bacteriana provocan una intensa respuesta inflamatoria del huésped como resultado de la lisis bacteriana. La meningitis bacteriana suele ser más severa que la meningitis viral y puede causar daño cerebral, pérdida de la audición, amputación de miembros, problemas de aprendizaje e incluso la muerte. Las causas más comunes de meningitis bacteriana son *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*, seguidas por Group B *Streptococcus* (GBS), *Escherichia coli* K1, *Listeria monocytogenes*, y *Haemophilus influenzae* type b.

Los bebés menores de 1 mes y las personas con sistemas inmunitarios debilitados tienen más probabilidades de tener una enfermedad grave a causa de la meningitis viral. Los pacientes no tratados con meningitis bacteriana muestran un deterioro progresivo del estado mental, mientras que la recuperación espontánea es habitual en los casos virales. El patógeno viral puede obtener acceso al CNS a través de 2 rutas principales: hematológica o neural. Hematológica es la ruta más común para la penetración de la mayoría de los patógenos virales conocidos. La penetración neural se refiere a la diseminación a lo largo de las raíces nerviosas y generalmente se limita a los virus del herpes y posiblemente a algunos enterovirus. La mayoría de los pacientes informan sobre fiebre, dolor de cabeza, irritabilidad, náuseas, vómitos, rigidez en el cuello, salpullido o fatiga en las últimas 18 a 36 horas. Los enterovirus son la causa más común de meningitis viral. Otros virus que pertenecen a la familia del herpes (HSV1, HSV2, VZV, EBV, CMV, HHV6 y HHV7), adenovirus y otros varios (mumps virus, parvovirus B19 y human parechoviruses), colectivamente pueden causar el resto de casos de meningitis viral.

REACTIVOS

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

Información de pedido (**REF** MG9700X)


Allplex™ Meningitis-V1 Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	MG-V1 MOM	500 µL	Mezcla de oligos de MuDT (MOM): - Reactivos de amplificación y detección
PREMIX	EM4	500 µL	- Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs
BUFFER	EM4 Buffer	500 µL	Tampón para PCR en tiempo real - Tampón que contiene BSA y glicerol
CONTROL +	MG-V1 PC	50 µL	Control Positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones IC
CONTROL IC	MG-V1 IC	1.000 µL	Control Interno (IC) exógeno
WATER	RNase-free Water	1.000 µL	Calidad ultrapura, grado PCR
	Manual del usuario		

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 25 reacciones.

Información de pedido (**REF** MG10209Z)

Allplex™ Meningitis-V1 Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	MG-V1 MOM	125 µL	Mezcla de oligos de MuDT (MOM): - Reactivos de amplificación y detección
PREMIX	EM4	125 µL	- Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs
BUFFER	EM4 Buffer	125 µL	Tampón para PCR en tiempo real - Tampón que contiene BSA y glicerol
CONTROL +	MG-V1 PC	50 µL	Control Positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones IC
CONTROL IC	MG-V1 IC	250 µL	Control Interno (IC) exógeno
WATER	RNase-free Water	1.000 µL	Calidad ultrapura, grado PCR
	Manual del usuario		

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ Meningitis-V1 Assay deben almacenarse a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Este producto puede usarse por 30 días después de su apertura inicial y resiste hasta 5 ciclos de congelación y descongelación sin que el rendimiento se vea afectado. Si se van a utilizar los reactivos solo de forma intermitente, deben almacenarse en partes alícuotas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

- Guantes desechables sin talco (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubo de microcentrifugación de 1,5 mL
- Máquina de hielo
- Centrífuga de sobremesa
- Mezclador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR Detection system (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx system (Bio-Rad)
- Tiras de 8 tubos de perfil bajo de 0,2 mL sin tapas (color blanco, Núm. Cat. TLS0851, Bio-Rad)
- Tiras de 8 tapas planas ópticas (Núm. Cat. TCS0803, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco (Núm. Cat. HSP9655, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco, código de barras (Núm. Cat. HSP9955, Bio-Rad)
- Sello de calor permanente y transparente (Núm. Cat. 1814035, Bio-Rad)*
- PX1 PCR Sellador de placas (sellador automático, Núm. Cat. 181-4000, Bio-Rad)*
- Mesa de trabajo limpia

* Asegúrese de usar el sello térmico y el sellador de placas listados arriba juntos.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PROTOCOLO**1. Recogida de muestras, almacenamiento y transporte**

Nota: Todas las muestras se deben tratar como material potencialmente infeccioso. Solo se permiten los materiales de las muestras que se recojan, almacenen y transporten de acuerdo con las siguientes normas e instrucciones de forma rigurosa.

Líquido cerebroespinal (CSF)

Nota: Para asegurar la alta calidad de las muestras, deben ser transportadas tan rápido como sea posible, a las temperaturas indicadas.

A. Recogida de muestras**Líquido cerebroespinal (CSF)**

- El médico es el encargado de recoger el *líquido cerebroespinal* (CSF) de modo aséptico, en un recipiente estéril usando técnicas de aspiración.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

Muestras	Almacenamiento y transporte		Nota
	Temp.	Duración*	
Líquido cerebroespinal (CSF)	2~8°C	5 días	- El rendimiento puede verse afectado por el almacenamiento prolongado de las muestras. - Las muestras también deben adherirse a las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno.

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

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Extracción de ácido nucleico

A. Control Interno (IC)

Nota: IC se incluye en el kit para permitir al usuario confirmar no solo el procedimiento de extracción de ácido nucleico, sino también para identificar cualquier inhibición de PCR.

- Se debe cargar el tubo de MG-V1 IC en el Microlab NIMBUS IVD, en el Microlab STARlet IVD, en el Seegene NIMBUS o en el Seegene STARlet antes de la extracción de ácido nucleico.
- Cuando utilice este producto con Allplex™ Meningitis-V2 Assay el tubo MG-V1 IC y el tubo MG-V2 IC deben estar cargados en el Microlab NIMBUS IVD, en el Microlab STARlet IVD, en el Seegene NIMBUS o en el Seegene STARlet antes de la extracción de ácido nucleico.
- Cuando utilice este producto con Allplex™ Meningitis-B Assay, el tubo MG-V1 IC o el tubo MG-B IC debe estar cargado en el Microlab NIMBUS IVD, en el Microlab STARlet IVD, en el Seegene NIMBUS o en el Seegene STARlet antes de la extracción de ácido nucleico.
- Cuando utilice este producto con Allplex™ Meningitis-V2 Assay y Allplex™ Meningitis-B Assay, **ambos**, el tubo MG-V1 (o MG-B) IC y el tubo MG-V2 IC deben estar cargados en el Microlab NIMBUS IVD, en el Microlab STARlet IVD, en el Seegene NIMBUS o en el Seegene STARlet antes de la extracción de ácido nucleico.

B. Sistema de extracción de ácido nucleico automatizado

Nota: Use la muestra recomendada y los volúmenes de la elución tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

B-1. Microlab NIMBUS IVD

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

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Microlab NIMBUS IVD	Hamilton	65415-02*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

* Por favor, utilice los números de catálogo mostrados anteriormente para la compra de productos a Seegene Inc.

B-2. Microlab STARlet IVD

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

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Microlab STARlet IVD	Hamilton	173000-075*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

* Por favor, utilice los números de catálogo mostrados anteriormente para la compra de productos a Seegene Inc.

B-3. Seegene NIMBUS

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de **Seegene NIMBUS**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Seegene NIMBUS	Seegene	65415-03	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

B-4. Seegene STARlet

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de **Seegene STARlet**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen 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.

3. Preparación de PCR en tiempo real

Nota: Deben usarse tubos y tapas adecuados (véase MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS).

Nota: Deben usarse filtros resistentes a los aerosoles y guantes ajustados al preparar las reacciones de PCR de un solo paso. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: Descongele totalmente todos los reactivos en baño de hielo.

Nota: Centrifugue brevemente los tubos de reactivos para recoger las gotas residuales de dentro de la tapa.

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

A. Prepare la Mastermix de PCR

5 µL	MG-V1 MOM
5 µL	EM4
5 µL	EM4 Buffer
15 µL	Volumen total de Mastermix de PCR

Nota: Calcule la cantidad total necesaria de cada reactivo, con base en la cantidad de reacciones, incluyendo muestras y controles.

B. Mezcle rápido en un mezclador de vórtice y centrifugue brevemente.

C. Utilice una parte proporcional de 15 µL de Mastermix de PCR en los tubos de PCR.

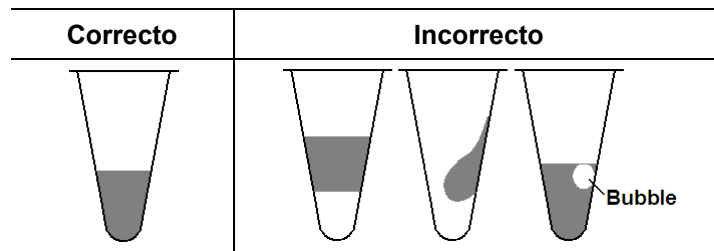
D. Añada 5 µL de los ácidos nucleicos de cada muestra en el tubo que contiene la Mastermix de PCR.

15 µL	Mastermix de PCR
5 µL	Ácido nucleico de la muestra
20 µL	Volumen total de la reacción

E. Cierre y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

F. Verifique que el líquido que contiene todos los componentes de PCR se encuentre en el fondo de cada tubo de PCR. Si no es así, centrifugue de nuevo a mayores rpm durante 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: Con cada muestra, use una nueva punta de pipeta estéril.

Nota: Para el **Control Negativo (NC)**, use 5 μ L de RNase-free Water en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el **Control Positivo (PC)**, use 5 μ L de MG-V1 PC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Por favor tenga cuidado de que no se produzca una contaminación cruzada de la mastermix PCR y de las muestras con el Control Positivo.

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

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

Dra. MARILINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

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

1.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: La configuración del experimento en el CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start Run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

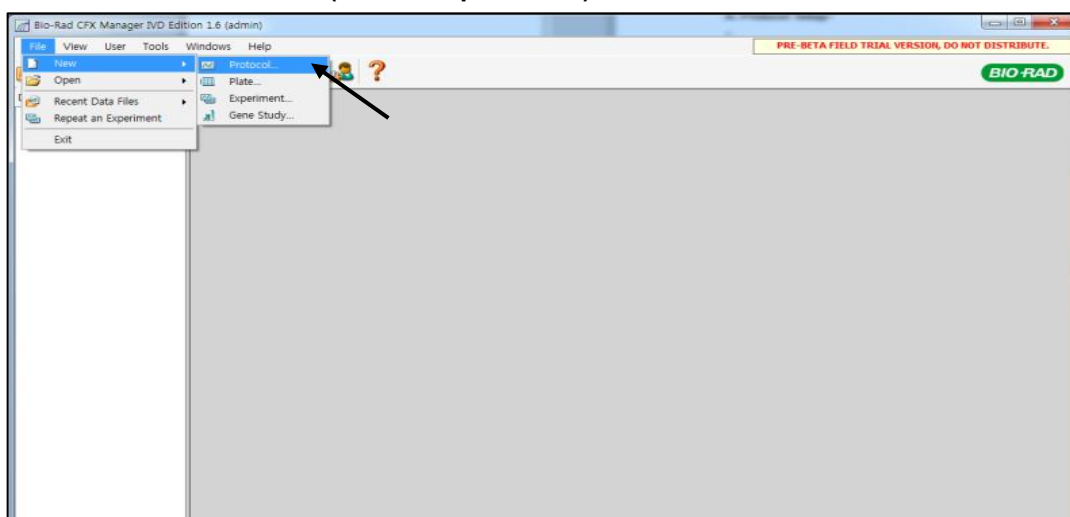


Fig. 1. **Protocol Setup (Configuración del protocolo)**. Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para iniciar el ciclo

2) En el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

Paso	No. de ciclos	Temp.	Duración
1	1	50°C	20 min
2		95°C	15 min
3	45	95°C	10 seg
4*		60°C	15 seg
5*		72°C	10 seg
6	GOTO Paso 3, 44 veces más		

Nota*: Lectura de la placa en el paso 4 y 5. La fluorescencia se detecta a 60°C y 72°C.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

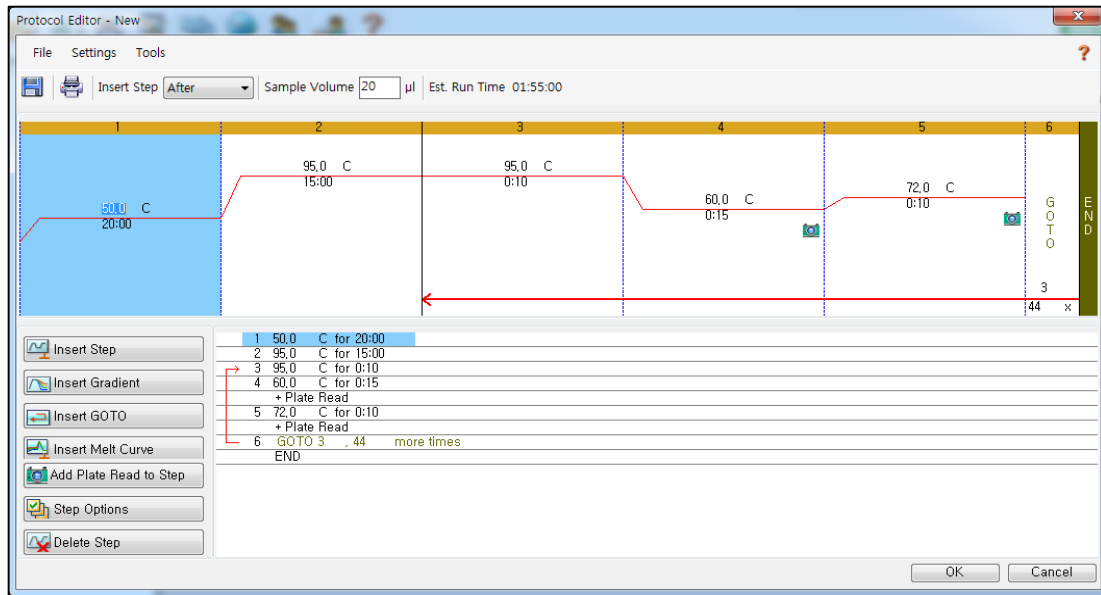


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

- 3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.
- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

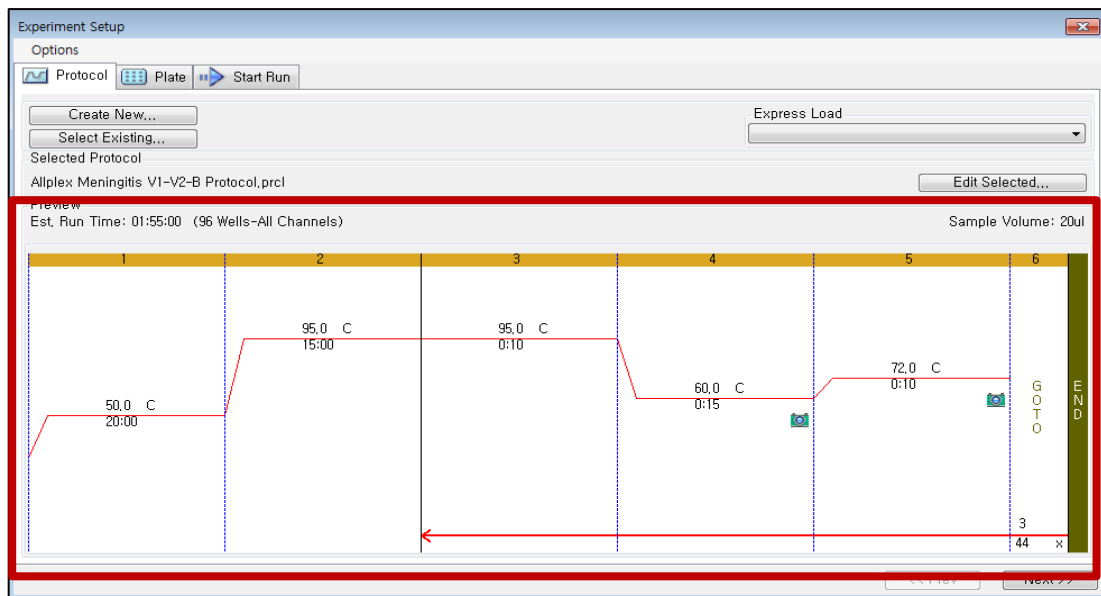


Fig. 3. Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

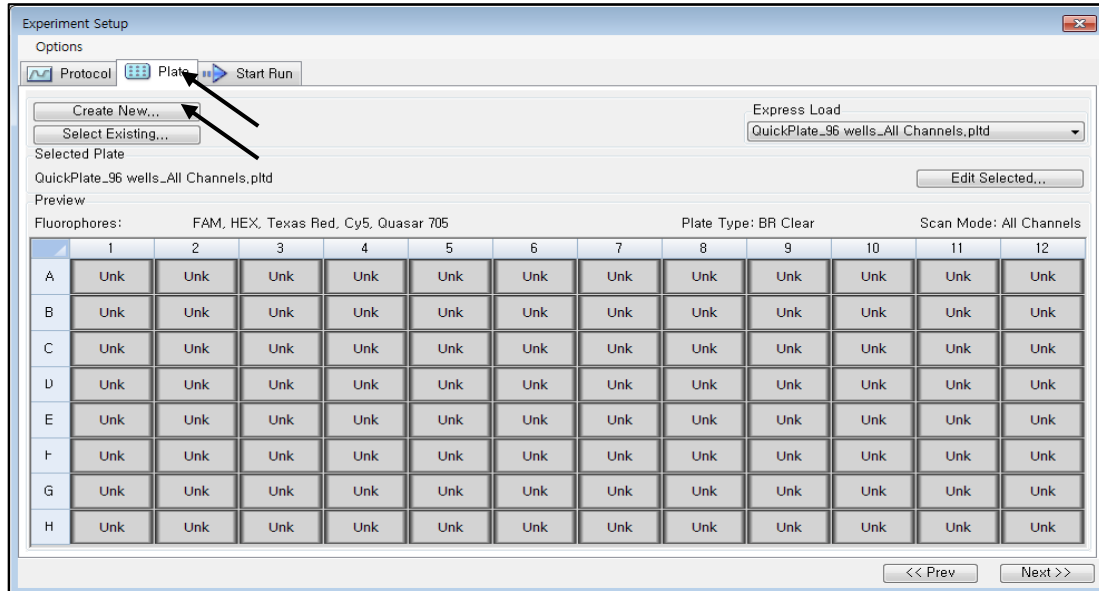


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placa)**. Crear una nueva placa

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

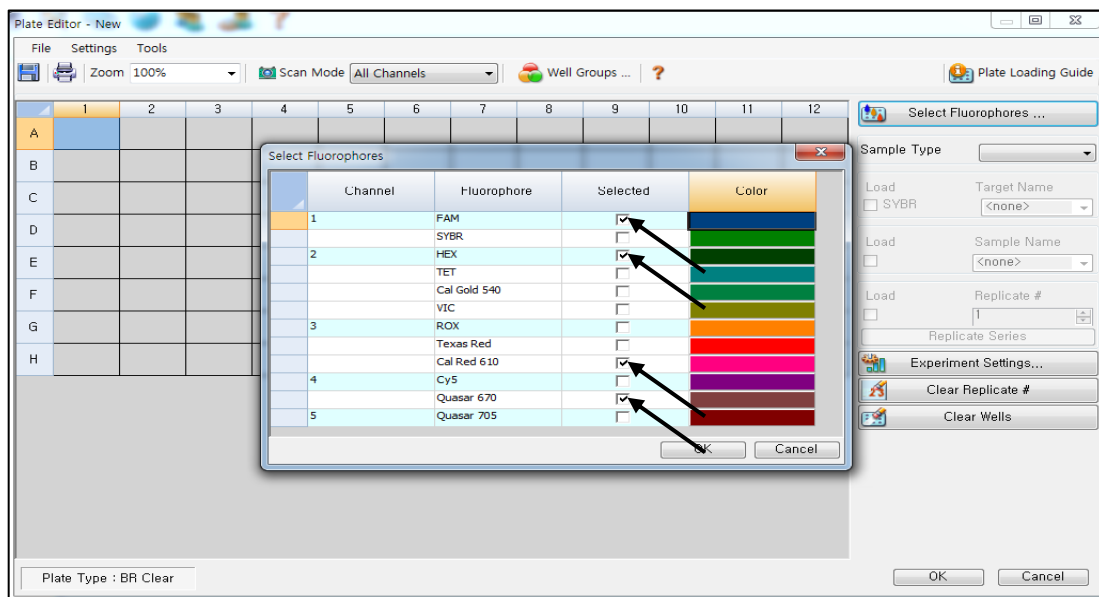


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)

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

- **Unknown (Desconocidos):** muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

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

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

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

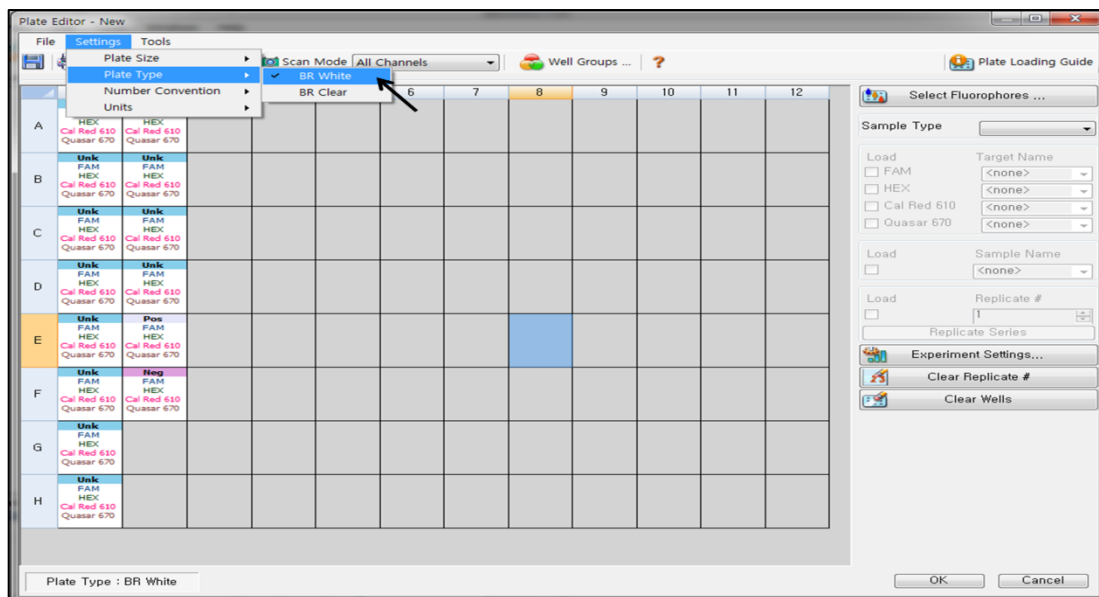


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

8) Regresará a la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

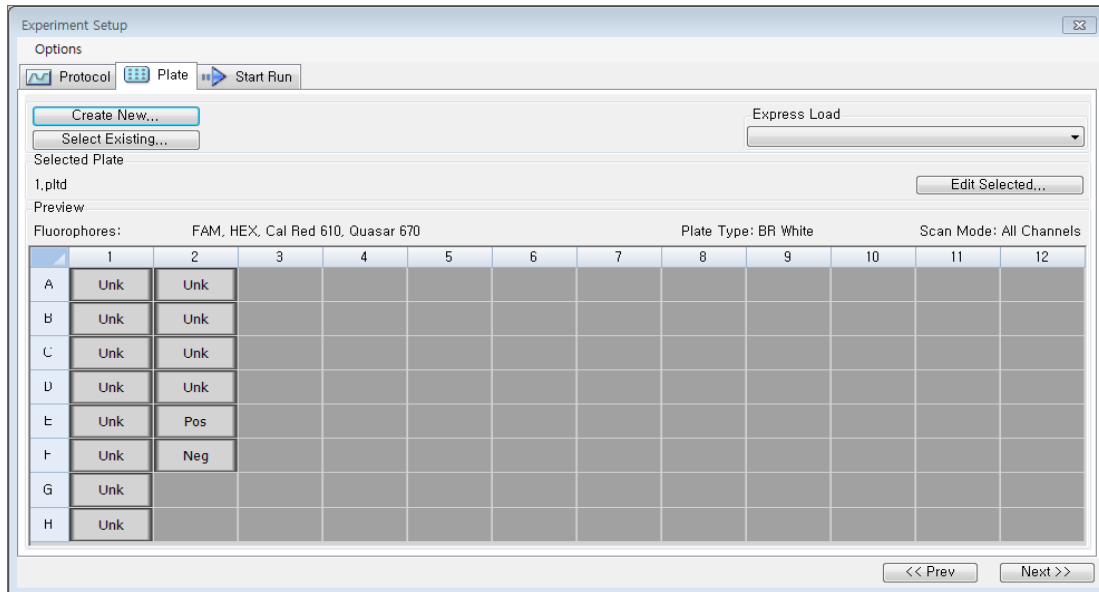


Fig. 7. **Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)**

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para ir a Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

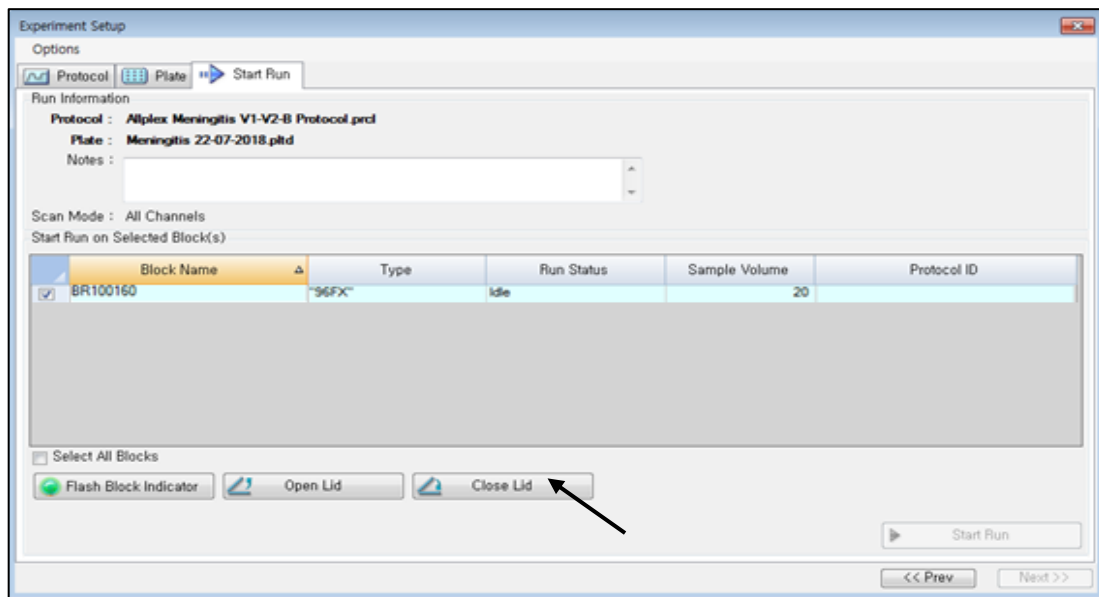


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

1.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Cree una nueva carpeta para guardar los resultados de detección de la curva de amplificación.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep4" y "QuantStep5" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

B. Configuración previa para el análisis de datos en CFX Manager™

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

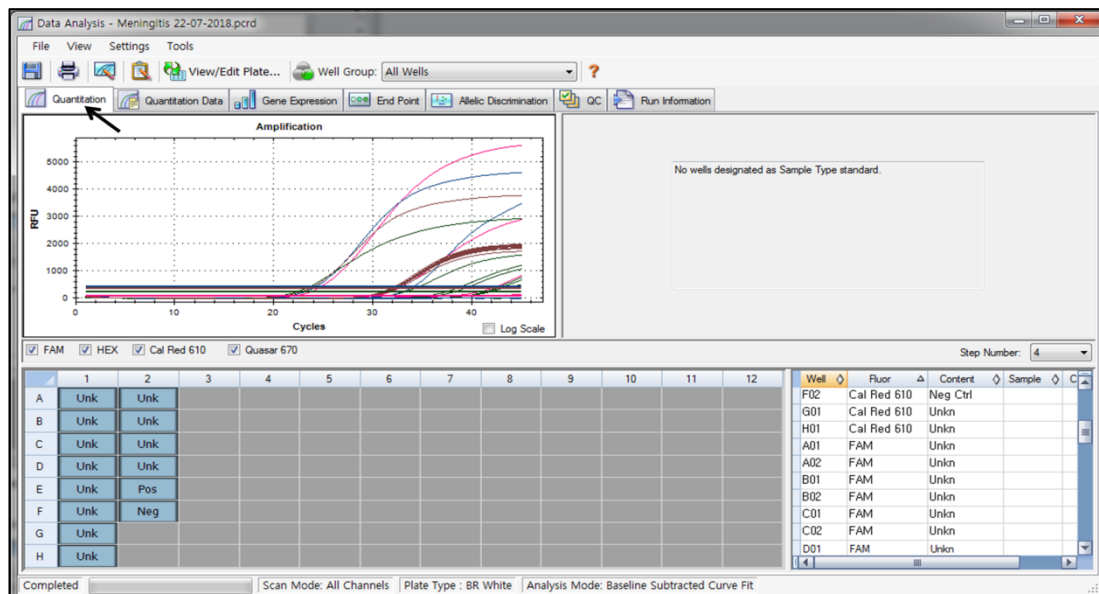


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el Analysis Mode (Modo Análisis) del menú Settings (Configuración).

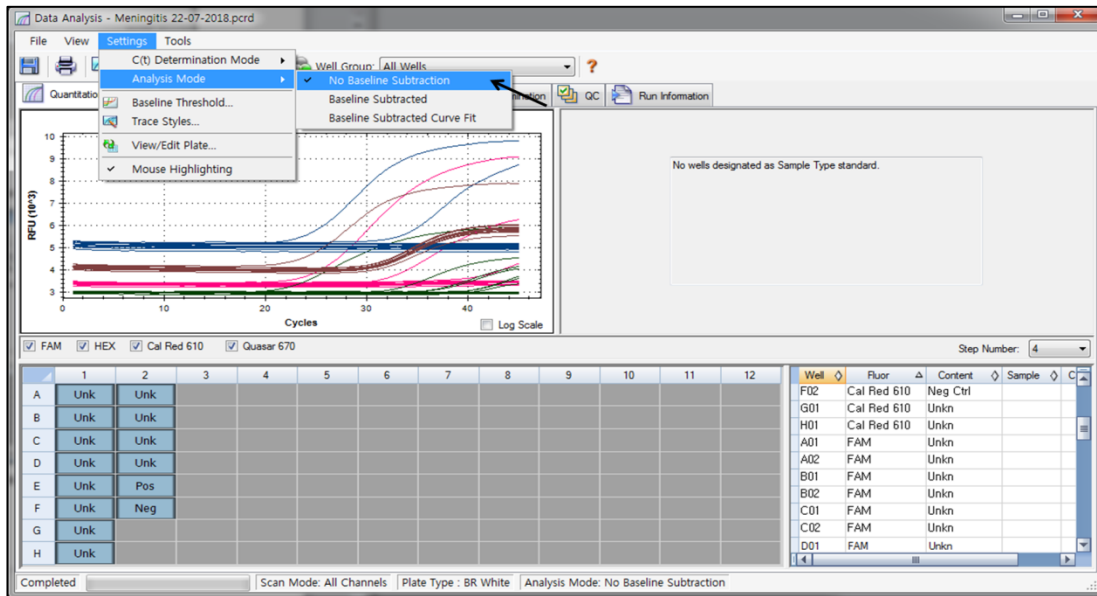


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)**

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación de Seegene)** en el menú Tools (Herramientas).

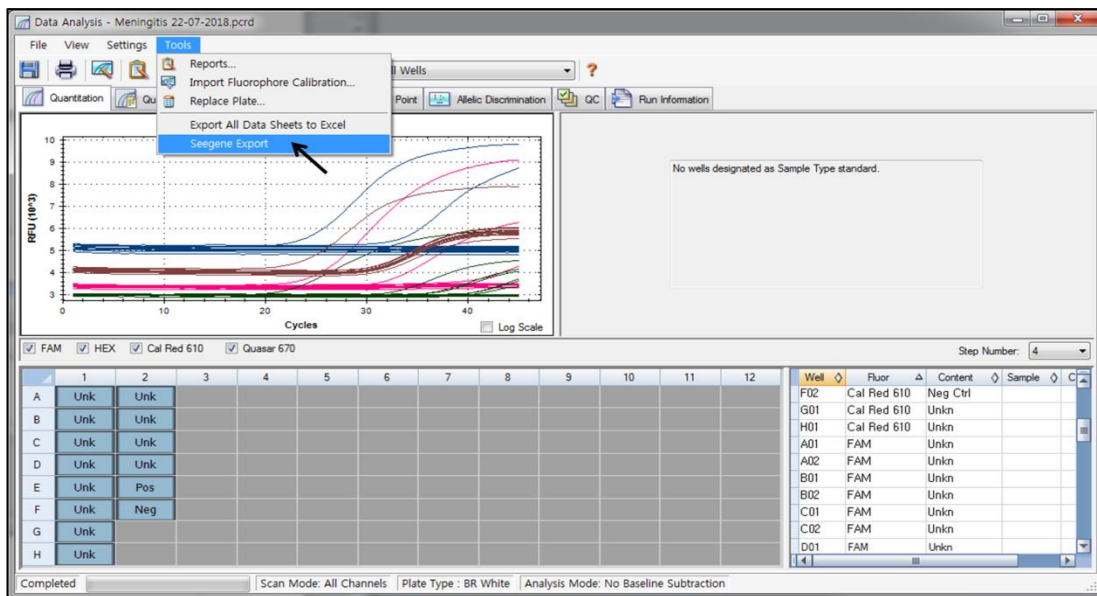


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

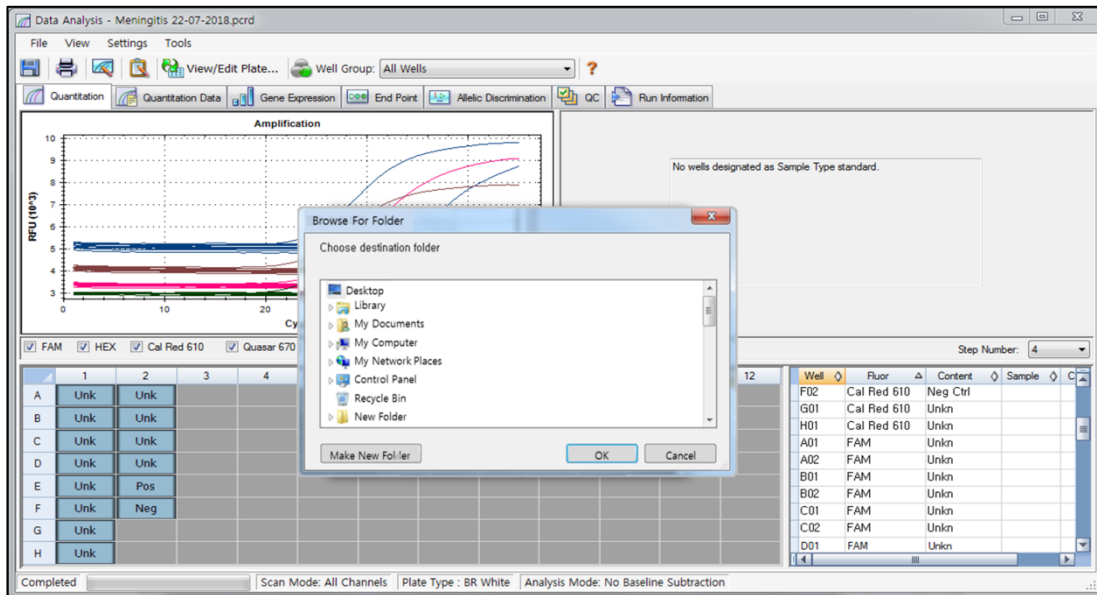


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

C. Configure el análisis de datos en Seegene Viewer

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

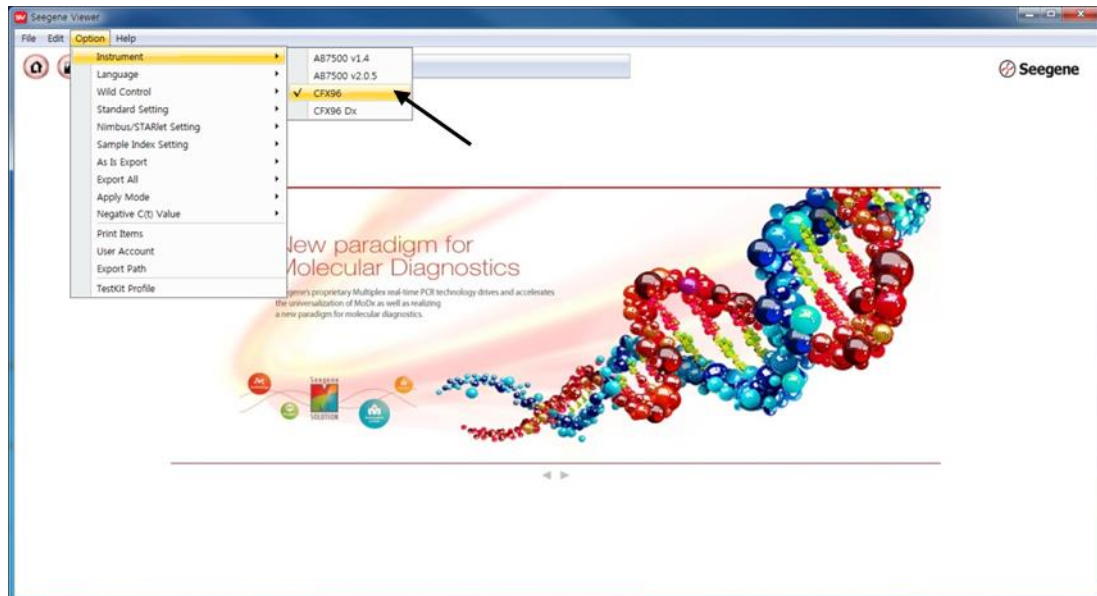


Fig. 13. Seegene Viewer

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para explorar los archivos guardados en la carpeta “QuantStep4”, abra el archivo de los resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

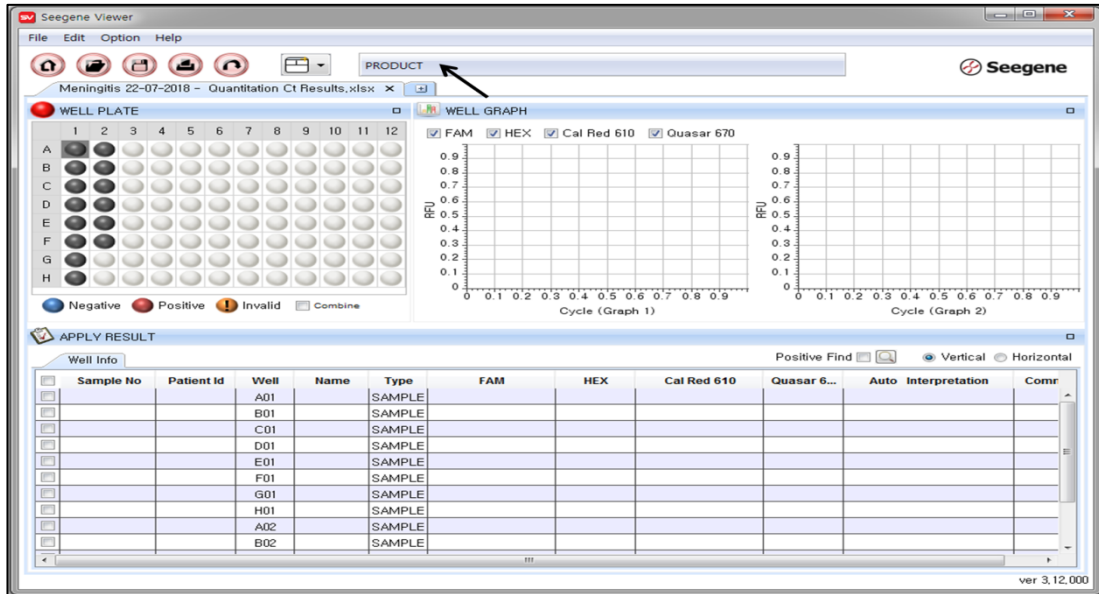


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

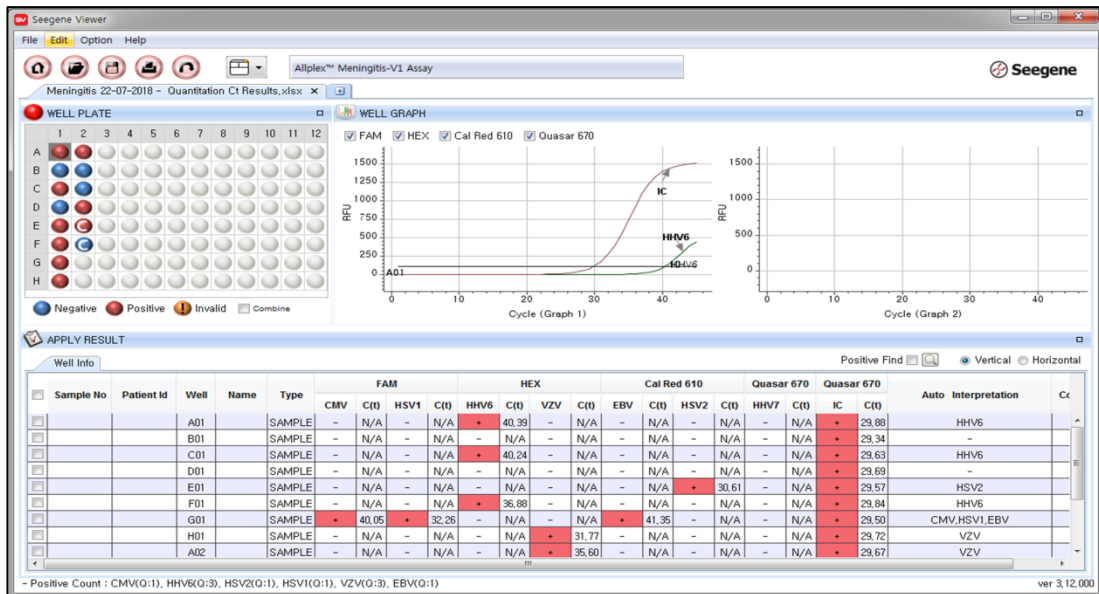


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Criterios de validación de los resultados del control
a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez del experimento, la reacción de PCR incluye Control Positivo (PC) y Control Negativo (NC). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

Control	Resultado de Seegene Viewer								Interpretación automática
	FAM (C _t)		HEX (C _t)		Cal Red 610 (C _t)		Quasar670 (C _t)		
	CMV	HSV1	HHV6	VZV	EBV	HSV2	HHV7	IC	
MG-V1 Control Positivo	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	Control Positivo (+)
Control Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo (-)

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos de falla en la validación, los resultados no se deben interpretar ni notificar, y se debe repetir la reacción del PCR

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)

2.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: la configuración del experimento para CFX96™ Dx System (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos: Protocol Setup (Configuración de protocolo), Plate Setup (Configuración de placa) y Start run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

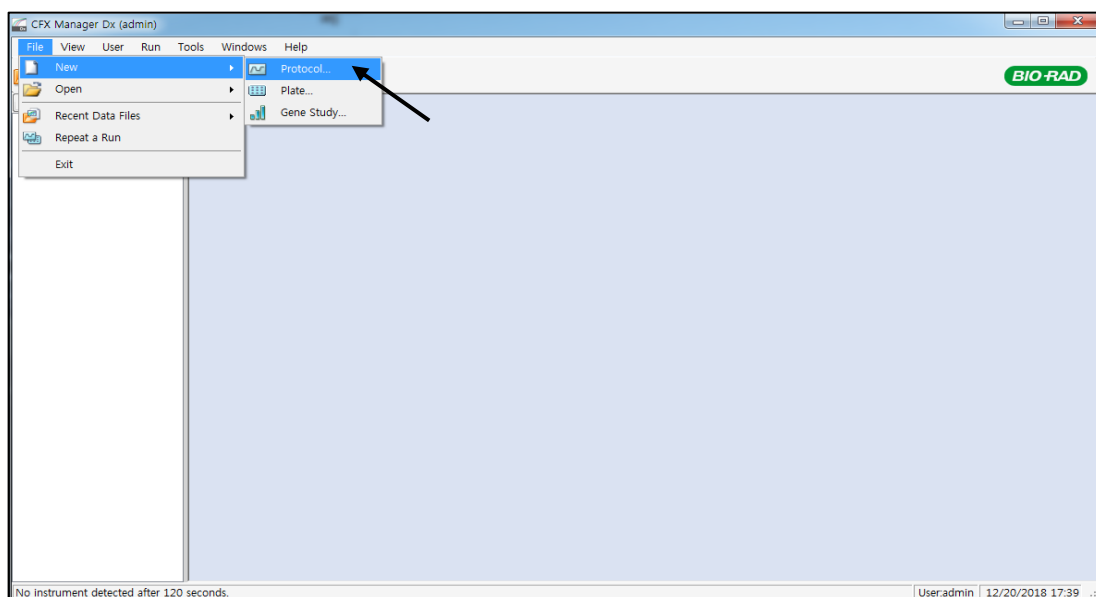


Fig. 1. **Protocol Setup (Configuración del protocolo)**. Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para iniciar el ciclo

2) En el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

Paso	No. de ciclos	Temp.	Duración
1	1	50°C	20 min
2		95°C	15 min
3	45	95°C	10 seg
4*		60°C	15 seg
5*		72°C	10 seg
6	GOTO Paso 3, 44 veces más		

Nota*: Lectura de la placa en el paso 4 y 5. La fluorescencia se detecta a 60°C y 72°C.

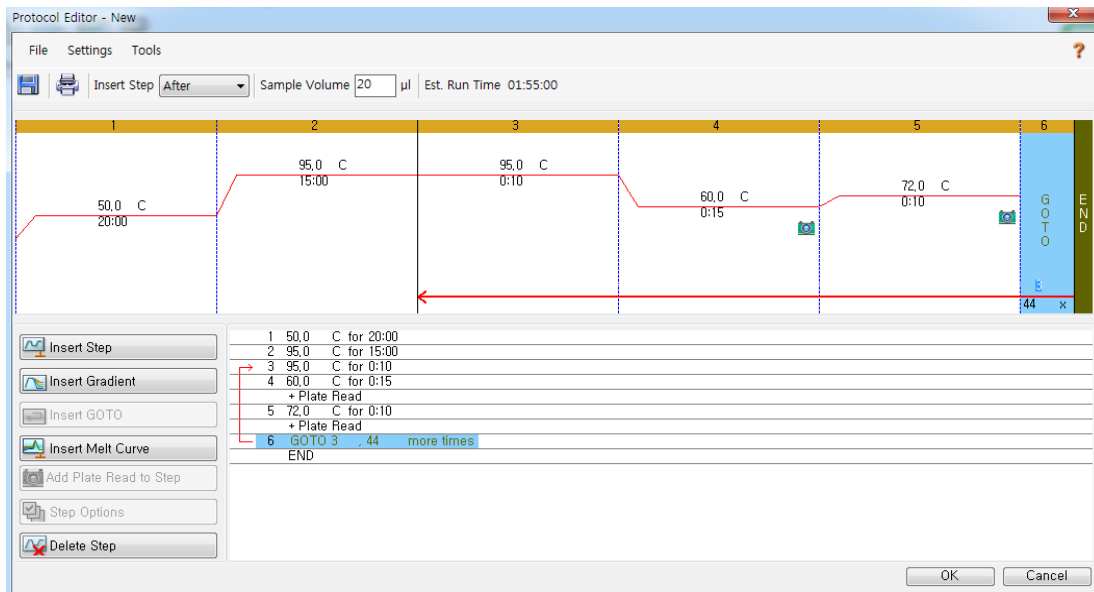


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

- 3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.
- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup (Configuración de Ejecución)**.

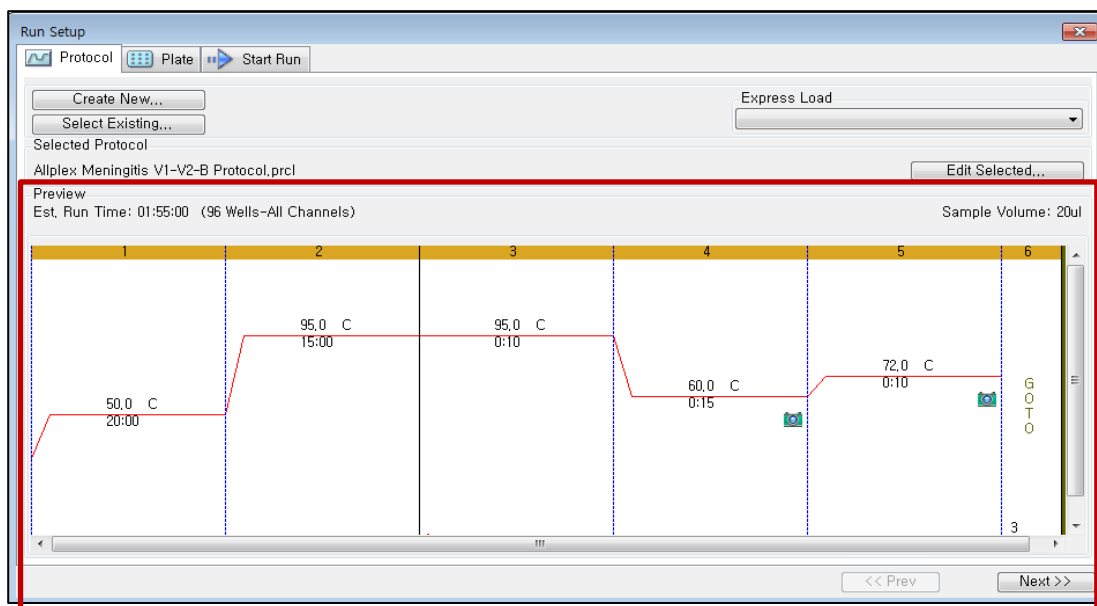


Fig. 3. Run Setup (Configuración de Ejecución): Protocol (Protocolo)

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) Desde la pestaña **Plate (Placa)** del menú **Run Setup (Configuración de Ejecución)**, haga clic en **Create New (Crear Nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de Placas)**.

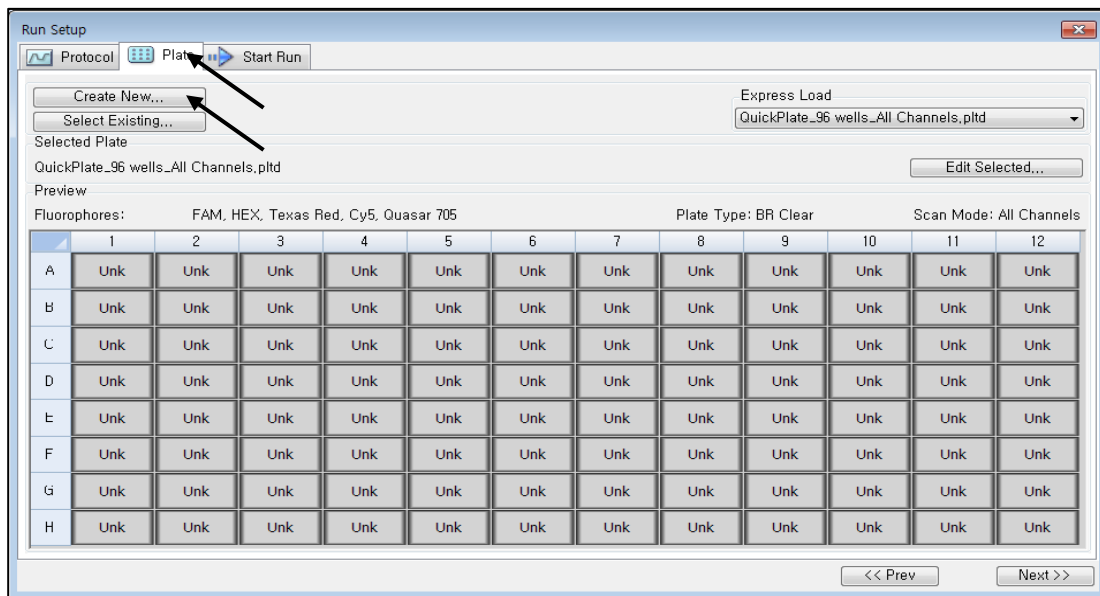


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de Placa)**. Crear una nueva placa

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

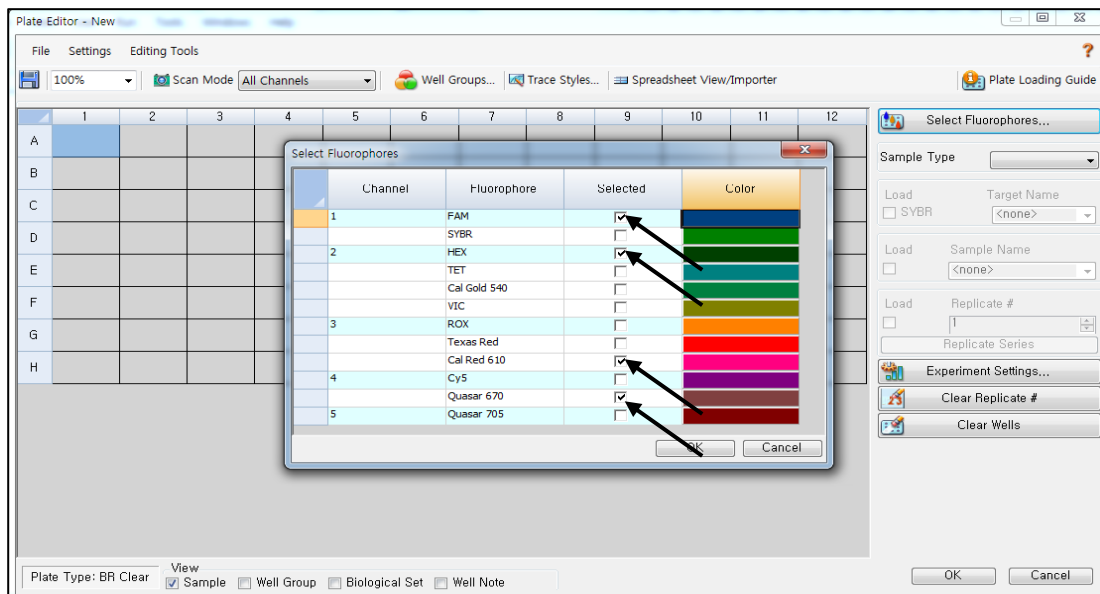


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)

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

- **Unknown (Desconocidos)**: muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

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

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

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

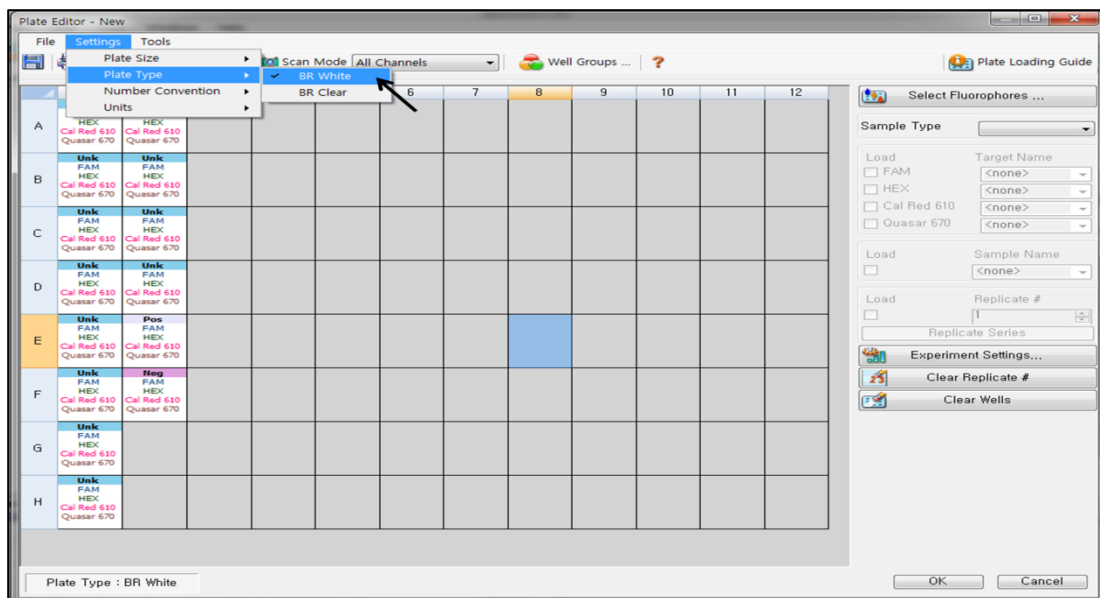


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

8) Vuelva a la ventana **Run Setup (Configuración de Ejecución)**.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

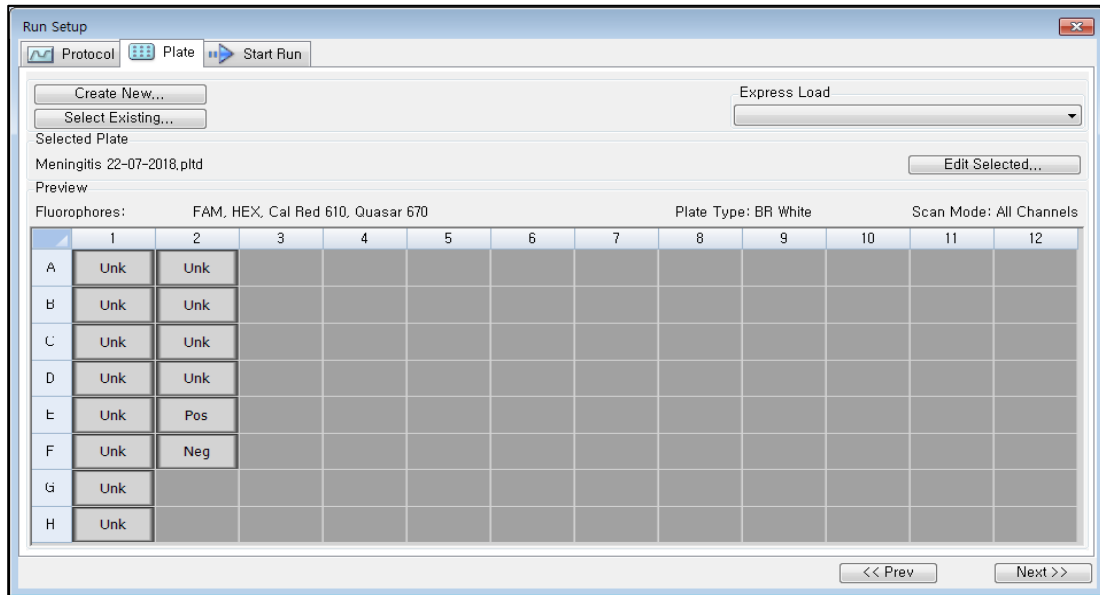


Fig. 7. Run Setup (Configuración del Ejecución): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para ir a Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) Desde la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Run Setup (Configuración de Ejecución)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar Tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

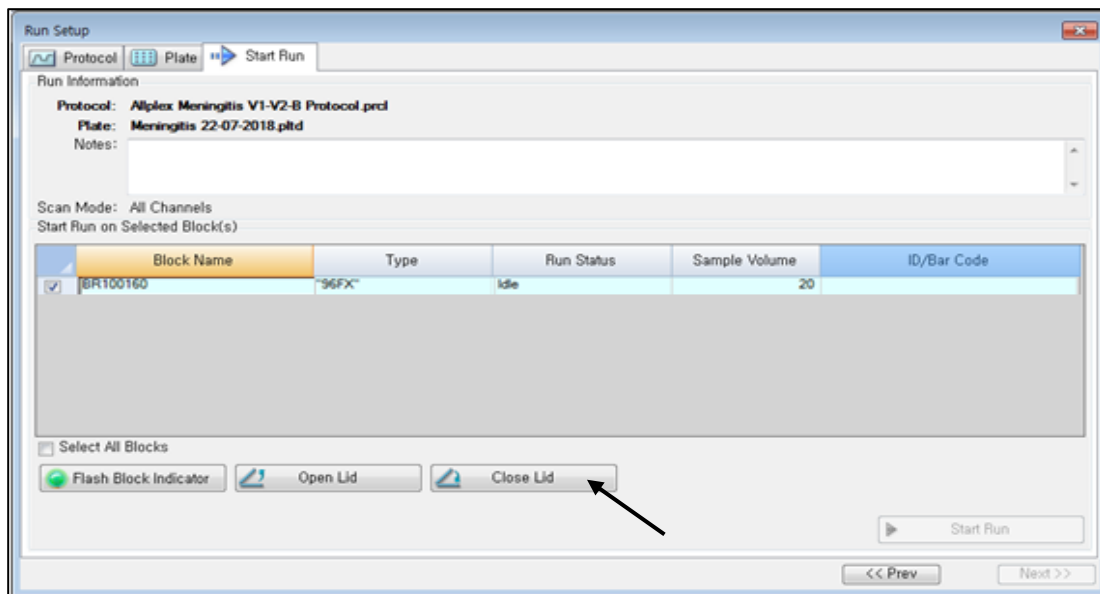


Fig. 8. Close Lid (Cerrar tapa)

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

2.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Cree una nueva carpeta para guardar los resultados de detección de la curva de amplificación.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep4" y "QuantStep5" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

B. Configuraciones predeterminadas para análisis de datos en el CFX Manager™

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

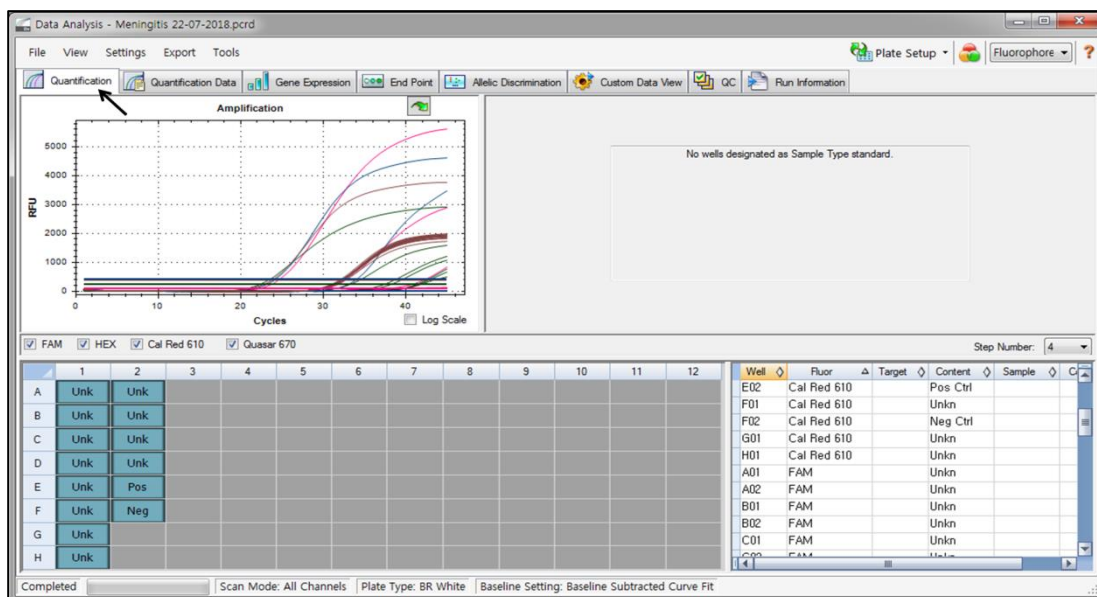


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el menú Settings (Configuración) de Baseline Setting (Configuración de valor basal).

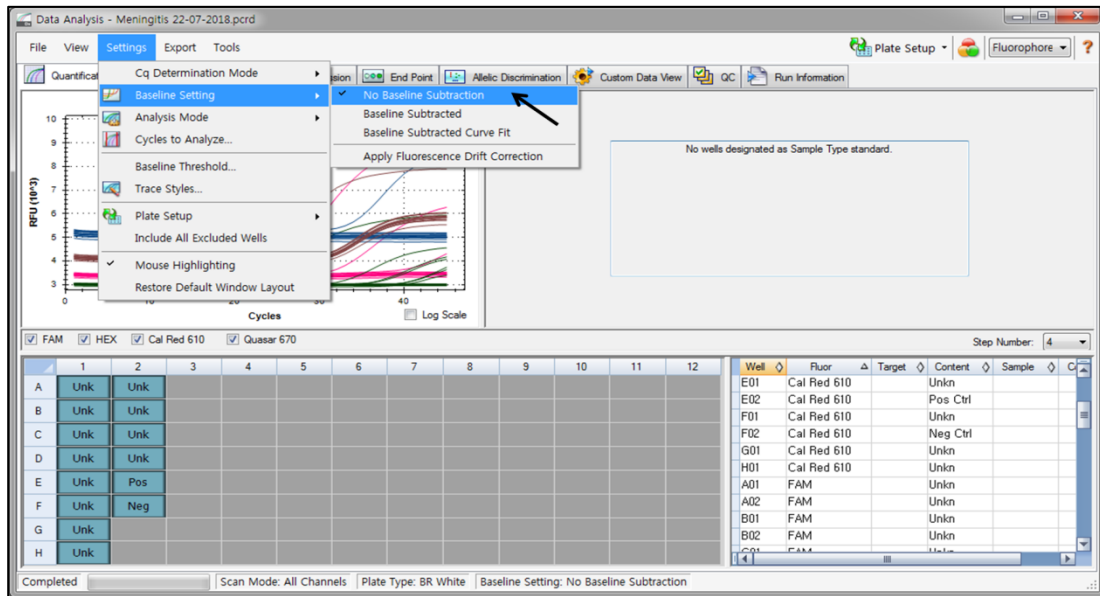


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)**

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación de Seegene)** del menú Export (Exportación).

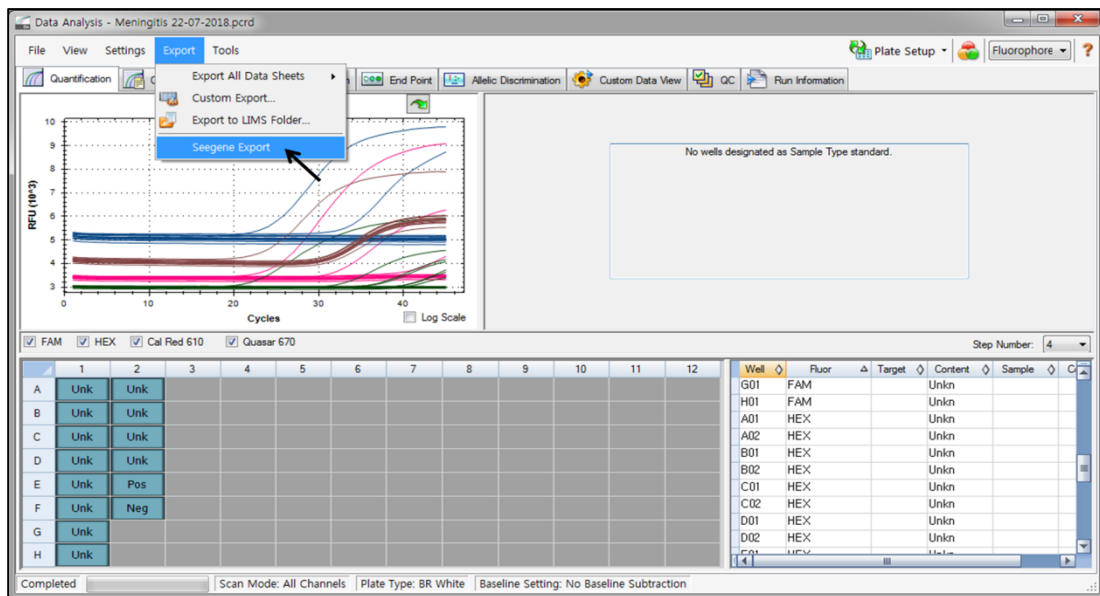


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

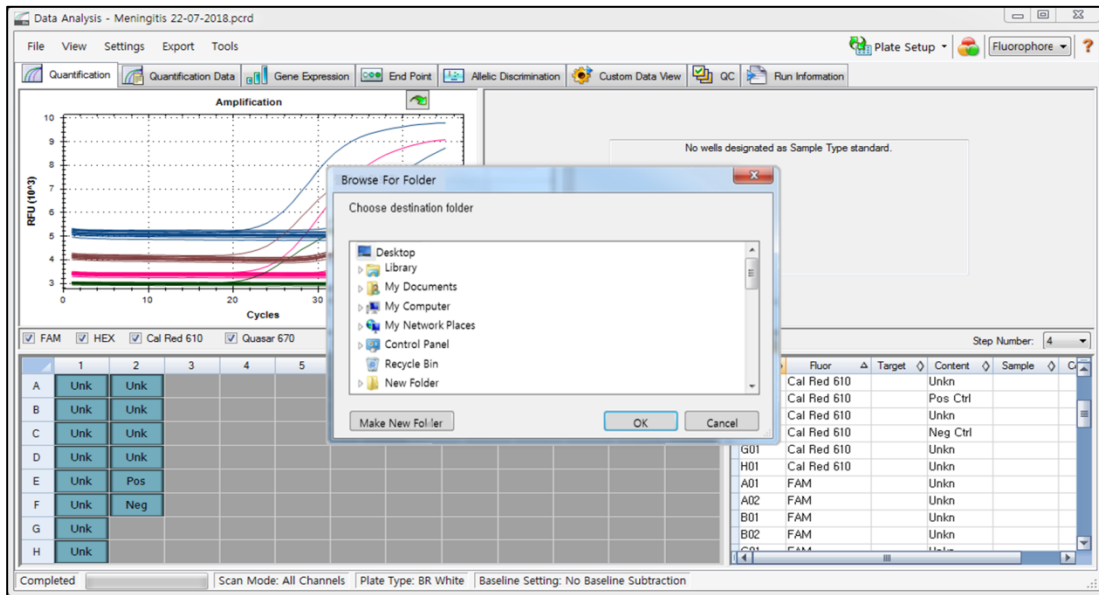


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

C. Configure el análisis de datos en Seegene Viewer

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

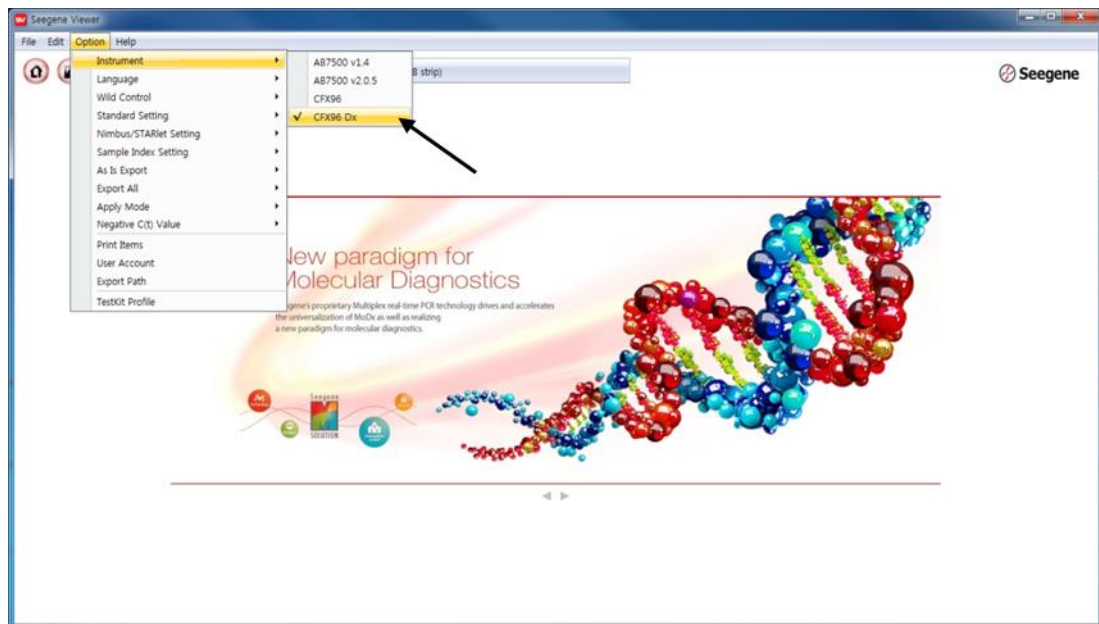


Fig. 13. Seegene Viewer

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para explorar los archivos guardados en la carpeta “QuantStep4”, abra el archivo de los resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT** (**PRODUCTO**).

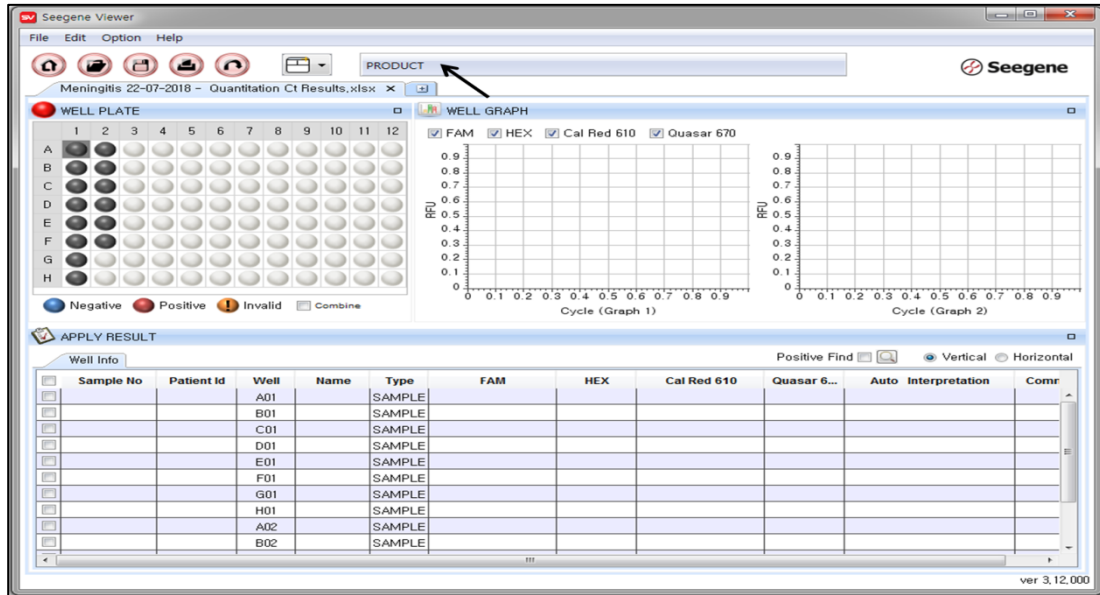


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

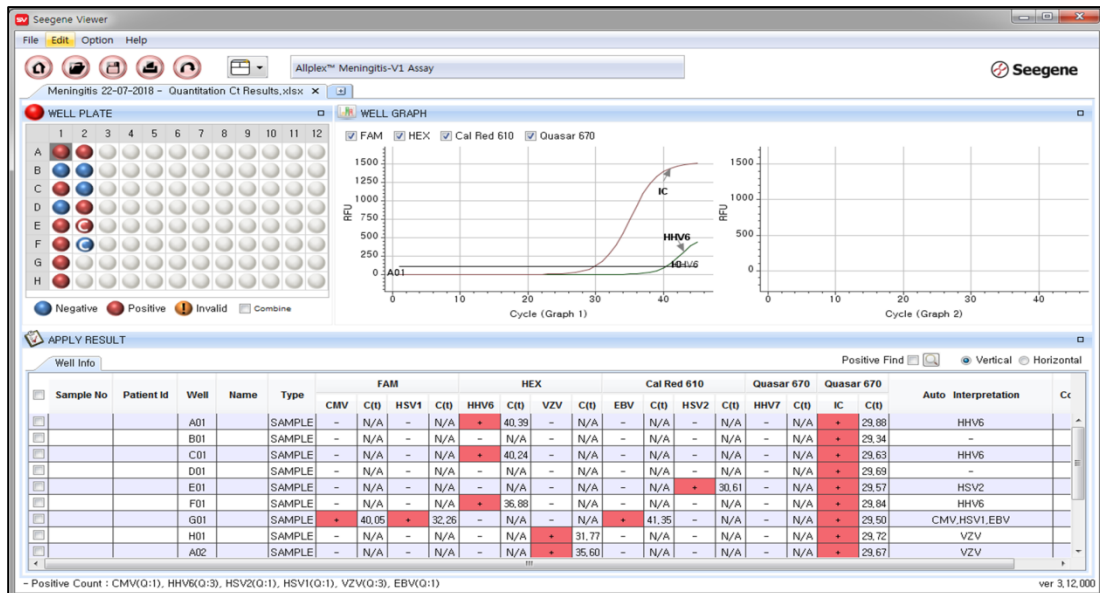


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Criterios de validación de los resultados del control
c. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez del experimento, la reacción de PCR incluye Control Positivo (PC) y Control Negativo (NC). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

Control	Resultado de Seegene Viewer								Interpretación automática
	FAM (C _t)		HEX (C _t)		Cal Red 610 (C _t)		Quasar670 (C _t)		
	CMV	HSV1	HHV6	VZV	EBV	HSV2	HHV7	IC	
MG-V1 Control Positivo	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	Control Positivo (+)
Control Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo (-)

d. Inicio de ensayo no válido

En los casos de falla en la validación, los resultados no se deben interpretar ni notificar, y se debe repetir la reacción del PCR.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RESULTADOS
1. Información de los analitos

Fluoróforo	Analito	
	Gráfico 1	Gráfico 2
FAM	Cytomegalovirus (CMV)	Herpes simplex virus 1 (HSV1)
HEX	Human herpesvirus 6 (HHV6)	Varicellar-zoster virus (VZV)
Cal Red 610	Epstein-Barr virus (EBV)	Herpes simplex virus 2 (HSV2)
Quasar 670	Control Interno (IC)	Human Herpes Virus Type 7 (HHV7)

2. Interpretación de los resultados

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

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Resultado diana		Resultado IC	Interpretación
Gráfico 1	Gráfico 2		
+	-	+	Ácido nucleico diana, detectado
-	+		
+	+		
+	-	-	Ácido nucleico diana, detectado* - Puede(n) estar presente(s) analito(s) adicionales que no se detectaron.
-	+		
+	+		
-	-	+	Ácido nucleico diana, no detectado
-	-	-	No válido** - Los resultados sugieren una recolección de muestras inadecuada, procesos (es decir, sin agregado de IC exógeno) o presencia de inhibidores. - Repita el test desde la extracción de ácido nucleico usando otra parte alícuota de la muestra original. - Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico diluido, recoja las muestras nuevamente.

* El alto nivel de ácidos nucleicos diana puede causar interferencia en la detección y lectura del control interno. La señal IC no válida no indica que los resultados positivos para los objetivos son inválidos.

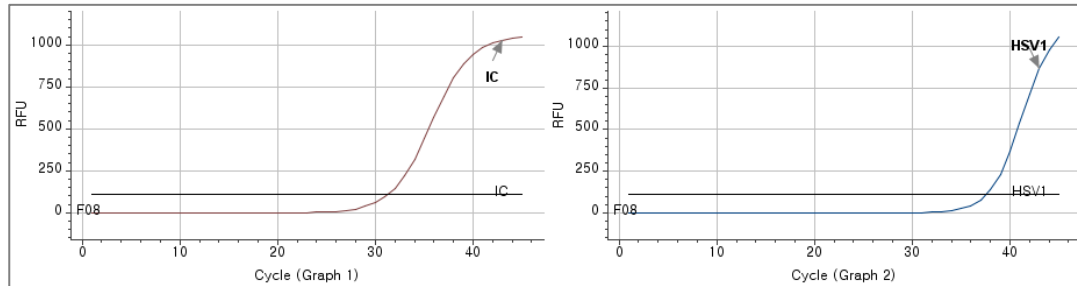
** Consulte la sección de solución de problemas para obtener instrucciones detalladas.

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

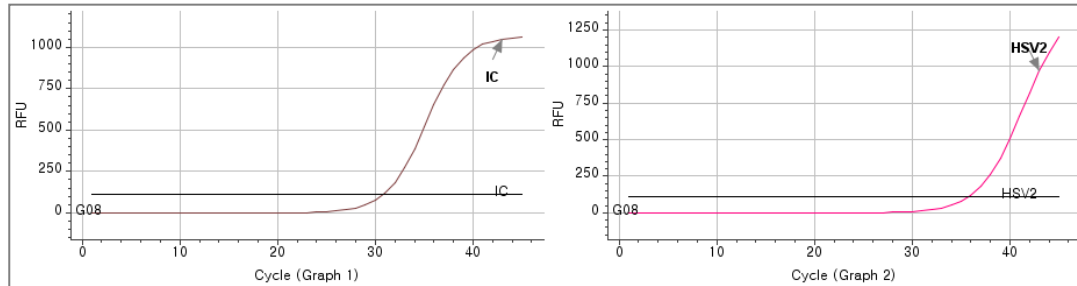
Dra. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Aplicación a muestras clínicas

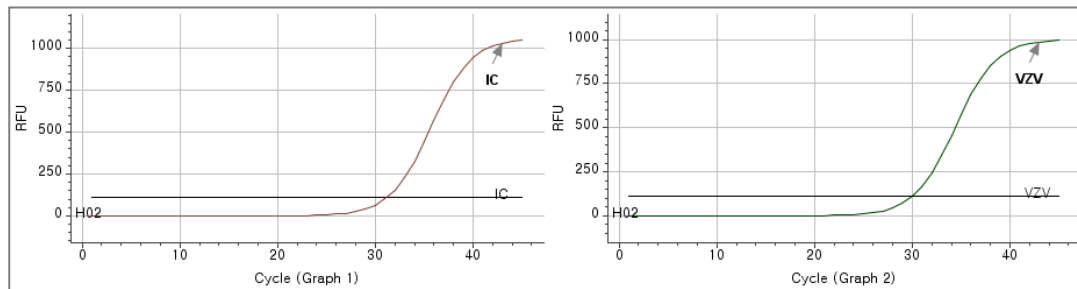
Muestra 1



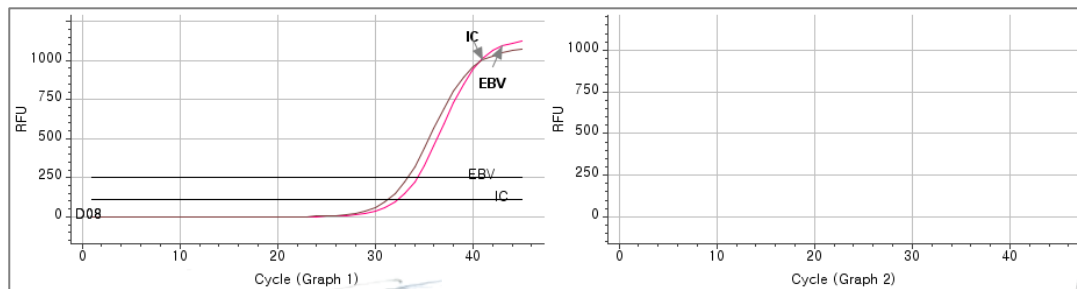
Muestra 2



Muestra 3



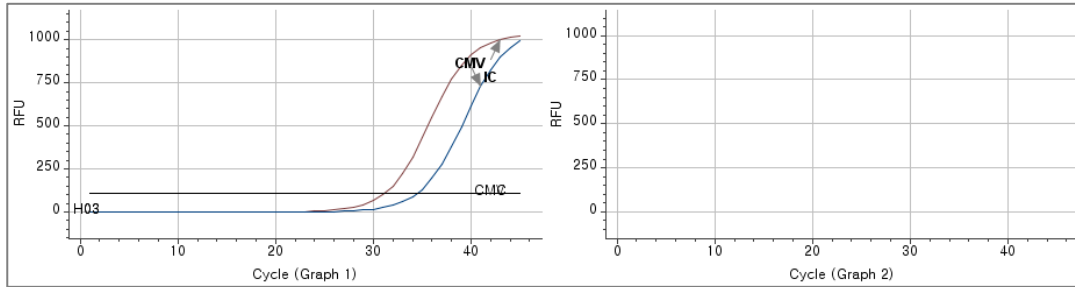
Muestra 4



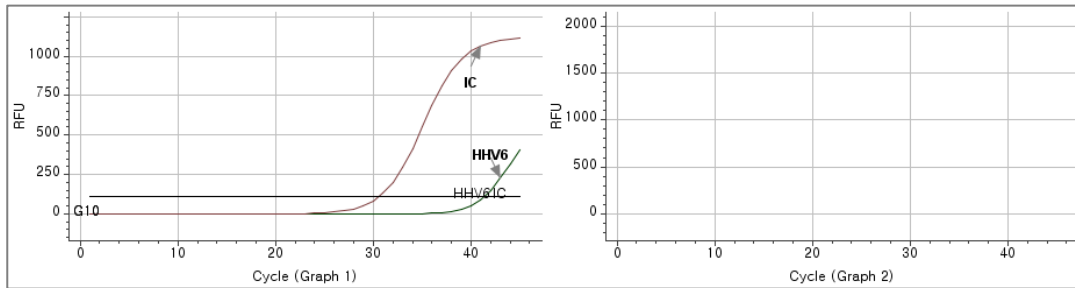
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
MHN-17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

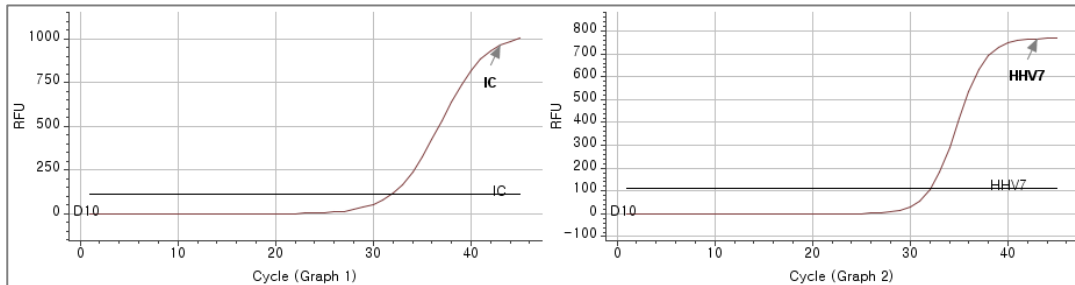
Muestra 5



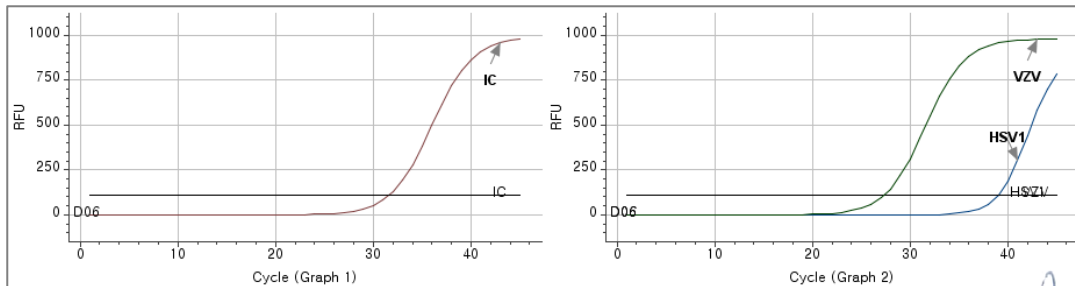
Muestra 6



Muestra 7

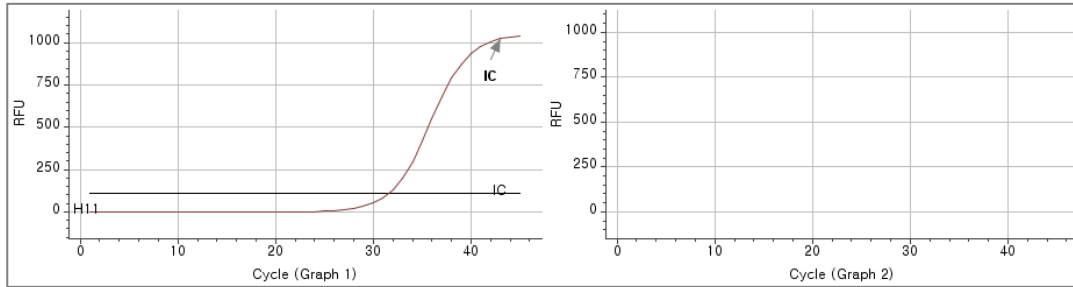


Muestra 8



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

Dra. MARILINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Muestra 9


Muestra	FAM				HEX				Cal Red 610				Quasar 670				Interpretación automática
	CMV	C(t)	HSV1	C(t)	HHV6	C(t)	VZV	C(t)	EBV	C(t)	HSV2	C(t)	HHV7	C(t)	IC	C(t)	
1	-	N/A	+	37,60	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,33	HSV1
2	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	35,76	-	N/A	+	30,83	HSV2
3	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	29,99	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,20	VZV
4	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	34,30	-	N/A	-	N/A	+	31,30	EBV
5	+	34,57	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,23	CMV
6	-	N/A	-	N/A	+	41,37	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	30,62	HHV6
7	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	32,08	+	31,83	HHV7
8	-	N/A	+	39,01	-	N/A	+	27,37	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,64	HSV1, VZV
9	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,62	-

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ Meningitis-V1 Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
No se observa señal	Los fluoróforos del análisis de datos no cumplen con el protocolo	Seleccionar los fluoróforos correctos para el análisis de datos.
	Configuración incorrecta del termociclador en tiempo real	Compruebe las condiciones del ciclo térmico y repita el test con la configuración adecuada.
	Almacenamiento incorrecto o expiración de la fecha de caducidad del kit de la prueba	Compruebe las condiciones de almacenamiento (véase página 9) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit de la prueba y use un nuevo kit si fuese necesario.
	Fallo en la extracción de ácido nucleico	Si se añadió el IC de forma exógena a la muestra antes de la extracción, la ausencia de señal de IC puede indicar una pérdida de ácido nucleico durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado. Si es debido a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra original o puede diluir la muestra en un tampón de solución salina 1/3~1/10 veces y luego añadir MG-V1 IC a la muestra diluida.
No se observa señal de Control Interno	Alta carga de ácido nucleico del patógeno	Si no se observan la señal del patógeno diana ni la de IC, recolecte de nuevo las muestras. Si se observa la señal del patógeno diana, pero no la del IC, entonces la amplificación del IC pudo haberse inhibido por una alta carga del patógeno diana. Para confirmar la señal del IC, diluya la muestra (1/3~1/10) en un tampón de solución salina y repita el test desde el paso de extracción.
	Presencia de inhibidor PCR	Diluya la muestra (1/3~1/10) en un tampón de solución salina y repita el test desde el paso de la extracción.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™ Meningitis-V1 Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
Señal(es) positiva(s) observada(s) en la muestra negativa o señal(es) observada(s) en control negativo	Contaminación	Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Use solo puntas de filtro durante el procedimiento y cámbielas entre cada tubo. Repita el procedimiento entero desde la extracción de ácido nucleico con el nuevo conjunto de reactivos.
No se observan señales ni supuestos falsos negativos en el Control Positivo	Error en la recogida de muestras	Compruebe el método de recogida de la muestra y vuelva a recogerla.
	Almacenamiento incorrecto de la muestra	Vuelva a recoger la muestra y repita todo el procedimiento. Asegúrese de que la muestra se almacena de la manera recomendada.
	Error en la extracción de ácido nucleico	Compruebe el procedimiento de extracción del ácido nucleico, así como la concentración de ácido nucleico y vuelva a extraerlo.
	Error al añadir ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes	Compruebe los números de muestra de los tubos que contienen el ácido nucleico y asegúrese de añadir ácido nucleico a los tubos de PCR adecuados. Repita cuidadosamente la prueba si fuese necesario.
	Presencia de inhibidor	Diluya la muestra (1/3~1/10) en un tampón de solución salina y repita el test desde el paso de la extracción.
	Mezcla de PCR incorrecta	Confirme que todos los componentes se añadan a la mezcla de PCR (la sensibilidad puede verse afectada por las premezclas anteriormente realizadas). Deben homogeneizarse todos los reactivos y centrifugarse antes de usar.
Picos en los ciclos de la curva de amplificación	Burbujas en el tubo de PCR	Centrifugue el tubo de PCR antes del inicio.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RENDIMIENTO
1. Especificidad

Se probó la reactividad cruzada de Allplex™ Meningitis-V1 Assay utilizando 107 materiales y organismos estándar, como se indica a continuación. Allplex™ Meningitis-V1 Assay identificó dianas específicas, diseñadas para la detección.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm.	Resultado [†]
1	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	ATCC	VR-260	HSV1 Detectado
2	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	ATCC	VR-733	HSV1 Detectado
3	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	ATCC	VR-1493	HSV1 Detectado
4	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	ATCC	VR-977D	CMV Detectado
5	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	ZMC	NATCMV-0005	CMV Detectado
6	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	QCMD	CMV15150	CMV Detectado
7	Epstein-Barr virus (EBV)	QCMD	EBVAQP03, EBV1604009E	EBV Detectado
8	Epstein-Barr virus (EBV)	ATCC	VR-1492	EBV Detectado
9	Epstein-Barr virus (EBV)	ATCC	VR-602	EBV Detectado
10	Herpes simplex virus 2 (HSV2)	ATCC	VR-540	HSV2 Detectado
11	Herpes simplex virus 2 (HSV2)	ATCC	VR-734	HSV2 Detectado
12	Human herpesvirus 6 (HHV6)	QCMD	HHV6MQP01	HHV6 Detectado
13	Human herpesvirus 6 (HHV6)	ATCC	VR-1480	HHV6 Detectado
14	Human herpesvirus 6 (HHV6)	ZMC	NATHHV6-ST	HHV6 Detectado
15	Human herpesvirus 7 (HHV7)	ZMC	NATHHV7-ST	HHV7 Detectado
16	Varicellar-zoster virus (VZV)	QCMD	VZVAQP02-C, VZV1604002E	VZV Detectado
17	Varicellar-zoster virus (VZV)	ATCC	VR-1367	VZV Detectado
18	<i>Acinetobacter baumannii</i>	KCTC	2508	No detectado
19	<i>Bacillus cereus</i>	KCTC	1661	No detectado
20	<i>Bacillus subtilis</i>	KCTC	1021	No detectado
21	<i>Citrobacter freundii</i>	KCTC	2509	No detectado
22	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	KCTC	3075	No detectado
23	<i>Corynebacterium striatum</i>	BEI	NR-13441	No detectado

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm.	Resultado [†]
24	<i>Corynebacterium urealyticus</i>	ATCC	43042	No detectado
25	Coxsackievirus B1_titering	KBPV	VR-13	No detectado
26	Dengue virus Type 2	BEI	NR-3791	No detectado
27	<i>Escherichia coli</i> (O138:K81(B):H14)	KCTC	2615	No detectado
28	<i>Escherichia coli</i> (O139:K82(B):H1)	KCTC	2616	No detectado
29	<i>Escherichia coli</i> (O8:K85:K99)	KCTC	2618	No detectado
30	<i>Escherichia coli</i> (O9:K35:K99)	KCTC	2617	No detectado
31	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KCCM	42703	No detectado
32	<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i>	KCTC	2361	No detectado
33	<i>Enterococcus faecalis</i>	KCTC	3511	No detectado
34	<i>Enterococcus faecium</i>	KCCM	12450	No detectado
35	<i>Escherichia coli</i>	ATCC	12014	No detectado
36	<i>Escherichia coli</i>	ATCC	25922	No detectado
37	<i>Escherichia fergusonii</i>	KCCM	41428	No detectado
38	<i>Escherichia hermannii</i>	KCTC	22526	No detectado
39	<i>Escherichia vulneris</i>	KCCM	40420	No detectado
40	<i>Haemophilus aegyptius</i>	ATCC	11116	No detectado
41	<i>Haemophilus aphrophilus</i>	KCCM	41597	No detectado
42	<i>Haemophilus ducreyi</i>	KCTC	2745	No detectado
43	<i>Haemophilus haemolyticus</i>	ATCC	33390	No detectado
44	Human Immunodeficiency Virus	ATCC	VR-3245SD	No detectado
45	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KCCM	41043	No detectado
46	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	KCTC	2208	No detectado
47	La Crosse Encephalitis Virus	ATCC	VR-1834	No detectado
48	<i>Listeria ivanovii</i> subsp. <i>Ivanovii</i>	KCTC	3444	No detectado
49	<i>Listeria seeligeri</i>	KCTC	3591	No detectado
50	<i>Listeria innocua</i> Seeliger	ATCC	33091	No detectado
51	Measles Virus	BEI	NR-3847	No detectado
52	Measles Virus	BEI	NR-44362	No detectado
53	<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	KCCM	11497	No detectado

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm.	Resultado†
54	Human Herpes Virus Type 8Stock	ZMC	NATHHV8-ST	No detectado
55	<i>Neisseria lactamica</i> Hollis et al.	ATCC	23972	No detectado
56	<i>Neisseria mucosa</i>	KCCM	11703	No detectado
57	<i>Neisseria sicca</i>	ATCC	29259	No detectado
58	<i>Pantoea agglomerans</i>	KCTC	2564	No detectado
59	<i>Propionibacterium acnes</i> subsp. <i>acnes</i>	KCTC	3314	No detectado
60	<i>Proteus mirabilis</i>	KCTC	2510	No detectado
61	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KCTC	2004	No detectado
62	<i>Salmonella bongori</i>	ATCC	43975	No detectado
63	<i>Serratia marcescens</i>	KCTC	2801	No detectado
64	<i>Shigella boydii</i>	KCTC	22528	No detectado
65	<i>Shigella flexneri</i>	KCTC	22192	No detectado
66	St. Louis Encephalitis Virus	ATCC	VR-3236SD	No detectado
67	<i>Staphylococcus aureus</i>	KCTC	3881	No detectado
68	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	KCCM	41466	No detectado
69	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KCCM	35494	No detectado
70	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	KCTC	3341	No detectado
71	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	KCCM	42266	No detectado
72	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	BEI	HM-141	No detectado
73	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	KCTC	3345	No detectado
74	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	KCTC	1773	No detectado
75	<i>Streptococcus anginosus</i>	KCTC	3983	No detectado
76	<i>Streptococcus australis</i>	KCTC	13913	No detectado
77	<i>Streptococcus bovis</i>	KCCM	40409	No detectado
78	<i>Streptococcus constellatus</i>	ATCC	27513	No detectado
79	<i>Streptococcus cristatus</i>	ATCC	151100	No detectado
80	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	KCTC	3098	No detectado
81	<i>Streptococcus entericus</i>	KCTC	13925	No detectado

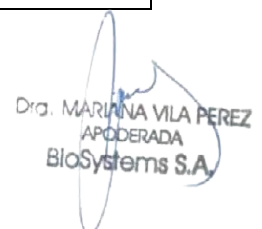
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm.	Resultado†
82	<i>Streptococcus gordonii</i>	KCTC	3286	No detectado
83	<i>Streptococcus hyointestinalis</i>	KCTC	3660	No detectado
84	<i>Streptococcus iniae</i>	KCTC	3657	No detectado
85	<i>Streptococcus intermedius</i>	KCTC	3268	No detectado
86	<i>Streptococcus lutetiensis</i>	KCTC	3877	No detectado
87	<i>Streptococcus macacae</i>	KCTC	3659	No detectado
88	<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC	15914	No detectado
89	<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC	6249	No detectado
90	<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC	49456D-5	No detectado
91	<i>Streptococcus mutans</i>	KCTC	3065	No detectado
92	<i>Streptococcus oralis</i>	KCTC	13048	No detectado
93	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	KCTC	13046	No detectado
94	<i>Streptococcus parauberis</i>	KCTC	3651	No detectado
95	<i>Streptococcus pleomorphus</i>	KCTC	3656	No detectado
96	<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	KCTC	5764	No detectado
97	<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	KCOM	1679	No detectado
98	<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	KCOM	1699	No detectado
99	<i>Streptococcus pyogenes</i>	KCCM	11873	No detectado
100	<i>Streptococcus rattii</i>	KCTC	3655	No detectado
101	<i>Streptococcus salivarius</i>	KCCM	11926	No detectado
102	<i>Streptococcus sanguinis</i>	KCTC	3284	No detectado
103	<i>Streptococcus sobrinus</i>	KCTC	3308	No detectado
104	<i>Streptococcus sobrinus</i>	KCTC	3308	No detectado
105	<i>Streptococcus suis</i>	KCTC	3557	No detectado
106	<i>Streptococcus vestibularis</i>	KCTC	3650	No detectado
107	West Nile Virus	ATCC	VR-3198SD	No detectado

† Los tests especificados se repitieron 3 veces.

※ ATCC: American Type Culture Collection
ZMC: ZeptoMetrix Corporation


 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

QCMD: Qnostics Corporation
KCTC: Korean Collection for Type Culture
BEI: BEI resources Corporation
KBPV: Korea Bank for Pathogenic Viruses
KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
KCOM: Korean Collection for Oral Microbiology

2. Sensibilidad

La sensibilidad se define como la concentración más baja de organismo que se puede detectar consistentemente ($\geq 95\%$ de los resultados positivos entre todas las muestras analizadas). Se confirmó cuando se obtuvieron los resultados correctos de organismo/ensayo de al menos 32 de las 32 muestras ($32/32 = 100\%$) evaluadas.

La sensibilidad de Allplex™ Meningitis-V1 Assay se determinó utilizando muestras adulteradas de DNA plasmídico diana (de 10^5 a 10^0 copias/reacción). El límite de detección para el Allplex™ Meningitis-V1 Assay fue de 100 copias/reacción.

3. Reproducibilidad

Se preparó el panel de reproducibilidad de 21 analitos simulados que incluía muestras muy negativas (0,1X LoD), poco positivas (1X LoD) y ligeramente positivas (3X LoD). En cada centro de pruebas se analizó el panel durante cinco días, dos operadores diferentes llevaron a cabo dos ciclos cada día y triplicaron el ciclo de cada panel a partir de una extracción. Se analizó con un único lote de Allplex™ Meningitis-V1 Assay en tres centros diferentes y con tres lotes en un centro interno. Se observaron tasas positivas de cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,00% de muestras ligeramente positivas, $\geq 97,33\%$ de muestras poco positivas y $\geq 29,33\%$ de muestras muy negativas.

La reproducibilidad del Allplex™ Meningitis-V1 Assay se evaluó entre sitios, lotes de productos y experimentadores. Los valores de CV cumplieron criterios de menos del 10% ($<10\%$).

Los resultados se cumplieron con los criterios establecidos anteriormente, confirmando así los rendimientos reproducibles del Allplex™ Meningitis-V1 Assay.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se llevó a cabo usando sustancias interferentes compuestas por 9 sustancias para confirmar el rendimiento de Allplex™ Meningitis-V1 Assay en la presencia de potenciales sustancias interferentes. El resultado no se vio afectado al añadir las sustancias: ni detección no específica ni inhibición en la amplificación objetiva. Teniendo en cuenta los resultados, las 9 sustancias interferentes no afectaron los resultados de Allplex™ Meningitis-V1 Assay.

Núm	Sustancias interferentes	Concentración
1	Albúmina (BSA)	60 mg/mL
2	Glucosa	10 mg/mL
3	Hemoglobina humana	2 mg/mL
4	Lactato (Sodio-L-Lactato)	6,6 mmol/L
5	Potasio (KCl)	7 mmol/L
6	Cloruro (NaCl)	120 mmol/L
7	Magnesio (MgCl ₂)	15 mmol/L
8	Ethanol	86,8 mmol/L
9	Calcio (CaCl ₂)	5 mmol/L

5. Estudio clínico

Se analizaron un total de 77 muestras clínicas con el ensayo Allplex™ Meningitis-V1 Assay y con productos de FTD (FTD Neuro 9 y FTD viral meningitis).

Con el ensayo Allplex™ Meningitis-V1 Assay se obtuvo una sensibilidad del 100% para todos los patógenos, excepto el Human herpesvirus 6. Se obtuvo 100% de especificidad para Cytomegalovirus, Varicellar-zoster virus, Epstein-Barr virus, Herpes simplex virus 2, Human herpesvirus 7, así como el 98,7% Herpes simplex virus 1 y Human herpesvirus 6 con Allplex™ Meningitis-V1 Assay.

A continuación se presenta un resumen de los resultados.

Analito	Sensibilidad (comparado con los productos de FTD)			Especificidad (comparado con los productos de FTD)		
	TP/ (TP+FN)	% ^{a)}	95% CI ^{c)}	TN/ (TN+FP)	% ^{b)}	95% CI ^{c)}
<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	2/2	100	22,7~100,0	75/75	100	98,0~100,0
Herpes simplex virus 1 (HSV1)	1/1	100	5,6~100,0	75 ^{d)} /76	98,7	97,4~98,7

Human herpesvirus 6 (HHV6)	0/0	-	-	76 ^d /77	98,7	98,7~98,7
Varicellar-zoster virus (VZV)	6/6	100	61,1~100,0	71/71	100	96,8~100,0
Epstein-Barr virus (EBV)	2/2	100	22,7~100,0	75/75	100	97,9~100,0
Herpes simplex virus 2 (HSV2)	2/2	100	22,7~100,0	75/75	100	98,0~100,0
Human herpesvirus 7 (HHV7)	1/1	100	5,7~100,0	76/76	100	98,8~100,0

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

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

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

d) Las muestras discrepantes (1 de 76 para el Herpes simplex virus 1, 1 de 77 para el Human herpesvirus 6) se confirmaron como verdaderos positivos por secuenciación.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REFERENCIAS



















1. C. E. Corless, M. Guiver, et al. [Simultaneous Detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococcus pneumoniae* in Suspected Cases of Meningitis and Septicemia Using Real-time PCR.] J Clin Microbiol. (2001) 39(4):1553-1558
2. De Crom, S. C. M. et al. [Enterovirus and Parechovirus Infection in Children: A Brief Overview.] European Journal of Pediatrics 175 (2016): 1023–1029.
3. Ginsberg L, [Difficult and recurrent meningitis] Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 2004.
4. Kim, K. S. [Pathogenesis of bacterial meningitis: from bacteraemia to neuronal injury], Nat. Rev. Neurosci. 4:376-385. 2003.
5. K. Y. Lee, D. Burgner, et al. [The Changing Epidemiology of Pediatric Aseptic Meningitis in Daejeon, Korea from 1987 to 2003.] BMC Infect Dis. (2005) 5:97
6. Logan, Sarah A E, and Eithne MacMahon. [Viral Meningitis] BMJtis] BMJJs] BMJPediatric Aseptic Meningitis in Dae
7. Laboratory Methodes for the Diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenza*, WHO MANUAL, 2nd edition, 2011
8. M. Ceyhan, I. Yildirim, et al. [A Prospective Study of Etiology of Childhood Acute Bacterial Meningitis, Turkey.] Emerg Infect Dis. (2008) 14(7):1089-1096
9. M. K. Boving, L. N. Pedersen, et al. [Eight-plex PCR and Liquid Array Detection of Bacterial and Viral Pathogens in Cerebrospinal Fluid from Patients with Suspected Meningitis.] J Clin Microbiol. (2009) 47(4):908-913
10. M. N. Theodoridou, V. A. Vasilopiulou et al. [Meningitis Registry of Hospitalized Cases in Children: Cpidemiological Patterns of Acute Bacterial Meningitis Throughout a 32-year Period.] BMC Infect Dis. 7:101-112, 2007
11. Okumura, A, and T Ichikawa. [Aseptic Meningitis Caused by Human Parvovirus B19], Archives of Disease in Childhood 68.6 (1993): 784J 089
12. Pearson N et al,. [Antibiotic prophylaxis for bacterial meningitis: overuse and uncertain efficacy], J Public Health Med. 17(4):455-8. 1995 Dec
13. P. K. Coyle. [Overview of Acute and Chronic Meningitis.] Neurol Clin. (1999) 17(4):692-709
14. S. Poppert, A. Essig, et al. [Rapid Diagnosis of Bacterial Meningitis by Real-time PCR and Fluorescence In Situ Hybridization.] J Clin Microbiol, 43(7):3390-3397, 2005
15. Z. B. Zheng, Y. D. Wu, et al. [DNA Microarray Technology for Simultaneous Detection and Species Identification of Seven Human Herpes Viruses] J Med Virol. 80(6):1042-1050, 2008

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SÍMBOLOS

Clave sobre los símbolos que se han usado en el manual y las etiquetas

Símbolo	Explicación
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Número de catálogo
	Utilizar por fecha
	Límite superior de temperatura
	Mezcla de oligonucleótidos para amplificación y detección
	Mezcla de enzimas
	PCR Master Mix o Detection Mix
	Tampón
	RNase-free Water
	Control Positivo (PC)
	Control Interno (IC)
	Consulte las instrucciones de uso
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Precaución
	Contiene suficiente para <n> test

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

Dra. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN DE PEDIDO

Núm. Cat.	Producto	Tamaño
Serie Allplex™		
MG9700Y	Allplex™ Meningitis-V1 Assay	50 rxns
MG9700X	Allplex™ Meningitis-V1 Assay	100 rxns*
MG10209Z	Allplex™ Meningitis-V1 Assay	25 rxns*
MG9500Y	Allplex™ Meningitis-V2 Assay	50 rxns
MG9500X	Allplex™ Meningitis-V2 Assay	100 rxns*
MG10210Z	Allplex™ Meningitis-V2 Assay	25 rxns*
MG9600Y	Allplex™ Meningitis-B Assay	50 rxns
MG9600X	Allplex™ Meningitis-B Assay	100 rxns*
MG10211Z	Allplex™ Meningitis-B Assay	25 rxns*

* Para usar solo con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet.

Productos accesorios

SG1701	Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	50 preps
--------	----------------------------------------------	----------

Sistemas de extracción automatizada

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

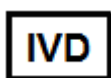
Meningitis-V1 Assay

(Núm. Cat. MG9700Y)

Un ensayo PCR múltiple en tiempo real para la detección del Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), y Human herpes virus 7 (HHV7) a partir del líquido cefalorraquídeo (CSF).

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)



Solo para diagnóstico *in vitro*



Seegene Inc.,

Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seúl, República de Corea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Alemania

No está disponible en Estados Unidos

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ÍNDICE

AVISOS -----	3
USO PREVISTO -----	4
PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS -----	5
INFORMACIÓN GENERAL -----	6
REACTIVOS -----	7
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN -----	8
MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS -----	8
PROTOCOLO -----	9
CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS -----	13
RESULTADOS -----	33
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS -----	38
RENDIMIENTO -----	40
REFERENCIAS -----	47
SÍMBOLOS -----	48
INFORMACIÓN DE PEDIDO -----	49

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

AVISOS

- Solo para diagnóstico *in vitro*.
- La fiabilidad de los resultados depende de que las muestras sean adecuadamente recolectadas, almacenadas, transportadas y procesadas.
- **Esta prueba ha sido aprobada para los siguientes tipos de muestras: Líquido cerebroespinal (CSF).** Esta prueba no ha sido aprobada para ningún otro tipo de muestra.
- **Almacene las muestras de DNA a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ hasta que se vayan a usar y consérvelas sobre hielo durante su uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede disminuir si las muestras se congelan y descongelan repetidas veces o si se almacenan durante mucho tiempo.
- El flujo de trabajo en el laboratorio debería desarrollarse de manera unidireccional.
- En todo momento deben usarse guantes desechables en cada zona y cambiarlos antes de entrar en las diferentes zonas. En caso de que se contaminen, se deben cambiar inmediatamente o tratar con un reactivo descontaminante de DNA.
- Los suministros y equipos deben ser asignados a cada área de trabajo y no se deben intercambiar entre una y otra área.
- No se debe pipetear con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las zonas de trabajo del laboratorio. Al manipular las muestras y reactivos, han de llevarse guantes sin talco desechables, bata de laboratorio y protección en los ojos. Deben lavarse bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de la prueba.
- Evite contaminar los reactivos al quitar las partes alícuotas de los tubos de reactivos. Se recomienda usar puntas de pipeta desechables estériles, resistentes a los aerosoles.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
- No use el producto después de su fecha de caducidad.
- No reúse los elementos desechables.
- Use tubos con tapa de rosca y evite cualquier posible salpicadura o contaminación cruzada de las muestras durante la preparación.
- Por favor, 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 utilizar puntas con filtro.
- Use zonas de trabajo separadas y segregadas para cada experimento.
- Para evitar la contaminación de áreas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos de reacción o cintas PCR solamente en las áreas de trabajo asignadas, después de la amplificación.
- Los materiales positivos se han de almacenar separados de los reactivos del kit.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Deben adoptarse los procedimientos de seguridad de laboratorio (consulte los documentos de Bioseguridad en los laboratorios microbiológicos y biomédicos y CLSI) al manipular las muestras. Limpie y desinfecte exhaustivamente 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) se pueden considerar como residuos de laboratorio. Deseche los reactivos sin utilizar y los residuos conforme a las normativas nacionales, regionales y locales de aplicación.
- La fecha de caducidad es de 12 meses desde la fecha de fabricación, a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Por favor, consulte la etiqueta para comprobar la fecha de caducidad.
- El nombre de la marca “CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD” pasó a ser “CFX96™ Dx System”. Ya que no se hicieron cambios al hardware del sistema, se espera que se obtengan los mismos resultados con ambos sistemas.
- El “CFX Manager™ Dx Software v3.1” es la versión actualizada del “CFX Manager™ Software-IVD v1.6”. El software actualizado incluye mejoras al menú “Run” (Ejecutar). Estas mejoras no afectan los resultados del análisis de datos; por lo que los resultados serán los mismos.
- Este kit está destinado a asistir en el diagnóstico diferencial de las infecciones por patógenos objetivo;
Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), y Human herpes virus 7 (HHV7).

USO PREVISTO

Allplex™ Meningitis-V1 Assay es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección única o múltiple del Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), y Human herpes virus 7 (HHV7) a partir de muestras del líquido cerebrospinal (CSF).

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS**1. Principios**

Allplex™ Meningitis-V1 Assay presenta tecnología MuDT™ propiedad de Seegene, que permite proporcionar valores multi-C_t (ciclo umbral) en un único canal de fluorescencia sin análisis de curva de fusión en instrumentos PCR en tiempo real.

Allplex™ Meningitis-V1 Assay es un ensayo PCR múltiplex en tiempo real que permite la amplificación y detección simultánea de ácidos nucleicos diana del Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), Human herpes virus 7 (HHV7) y Control Interno (IC). La presencia de una secuencia de genes específicos en la reacción se notifica como un valor C_t a través del software de análisis Seegene Viewer.

Se utiliza un gen exógeno como Control Interno (IC) para supervisar todo el proceso de recogida de muestras, extracción de ácido nucleico y constatar cualquier posible inhibición de la PCR.

Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, se utiliza un sistema de Uracil-DNA glicosilasa (UDG)-dUTP en Allplex™ Meningitis-V1 Assay. El sistema UDG-dUTP se usa comúnmente cuando se realiza una PCR para eliminar los amplicones sobrantes usando escisiones por UDG de residuos de uracilo desde el DNA mediante la escisión del enlace N-glicosílicos.

2. Información sobre el procedimiento

INFORMACIÓN GENERAL

La meningitis es una inflamación de las membranas protectoras que cubren el cerebro y la médula espinal. La inflamación puede ser causada por una infección con virus, bacterias u otros microorganismos y, con menor frecuencia, por ciertas drogas. Una infección bacteriana o viral del líquido que rodea el cerebro y la médula espinal generalmente causa la inflamación. La meningitis bacteriana es una afección potencialmente mortal que requiere reconocimiento y tratamiento oportunos. En la etapa inicial de la infección, no hay indicadores clínicos confiables disponibles para diferenciar entre dos tipos distintos de meningitis, por lo que todos los casos sospechosos deben remitirse al hospital. Con el fin de minimizar las prescripciones innecesarias de antibióticos y determinar el curso correcto del tratamiento, es muy importante identificar en una etapa temprana si la meningitis es causada por una infección viral o por una bacteriana.


Las bacterias alcanzan el espacio subaracnoideo por vía hematológica y pueden llegar directamente a las meninges en pacientes con un foco de infección parameningeo. Una vez que los patógenos ingresan al espacio subaracnoideo, el ácido lipoteicoico y otros productos de la pared celular bacteriana provocan una intensa respuesta inflamatoria del huésped como resultado de la lisis bacteriana. La meningitis bacteriana suele ser más severa que la meningitis viral y puede causar daño cerebral, pérdida de la audición, amputación de miembros, problemas de aprendizaje e incluso la muerte. Las causas más comunes de meningitis bacteriana son *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*, seguidas por Group B *Streptococcus* (GBS), *Escherichia coli* K1, *Listeria monocytogenes*, y *Haemophilus influenzae* type b.

Los bebés menores de 1 mes y las personas con sistemas inmunitarios debilitados tienen más probabilidades de tener una enfermedad grave a causa de la meningitis viral. Los pacientes no tratados con meningitis bacteriana muestran un deterioro progresivo del estado mental, mientras que la recuperación espontánea es habitual en los casos virales. El patógeno viral puede obtener acceso al CNS a través de 2 rutas principales: hematológica o neural. Hematológica es la ruta más común para la penetración de la mayoría de los patógenos virales conocidos. La penetración neural se refiere a la diseminación a lo largo de las raíces nerviosas y generalmente se limita a los virus del herpes y posiblemente a algunos enterovirus. La mayoría de los pacientes informan sobre fiebre, dolor de cabeza, irritabilidad, náuseas, vómitos, rigidez en el cuello, salpullido o fatiga en las últimas 18 a 36 horas. Los enterovirus son la causa más común de meningitis viral. Otros virus que pertenecen a la familia del herpes (HSV1, HSV2, VZV, EBV, CMV, HHV6 y HHV7), adenovirus y otros varios (mumps virus, parvovirus B19 y human parechoviruses), colectivamente pueden causar el resto de casos de meningitis viral.

REACTIVOS

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

Información de pedido (**REF** MG9700Y)

Allplex™ Meningitis-V1 Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	MG-V1 MOM	250 µL	Mezcla de oligos de MuDT (MOM): - Reactivos de amplificación y detección
PREMIX	EM4	250 µL	- Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs
BUFFER	EM4 Buffer	250 µL	Tampón para PCR en tiempo real - Tampón que contiene BSA y glicerol
CONTROL +	MG-V1 PC	25 µL	Control Positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones IC
CONTROL IC	MG-V1 IC	500 µL	Control Interno (IC) exógeno
WATER	RNase-free Water	1.000 µL	Calidad ultrapura, grado PCR
	Manual del usuario		

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ Meningitis-V1 Assay deben almacenarse a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Este producto puede usarse por 30 días después de su apertura inicial y resiste hasta 5 ciclos de congelación y descongelación sin que el rendimiento se vea afectado. Si se van a utilizar los reactivos solo de forma intermitente, deben almacenarse en partes alícuotas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

- Guantes desechables sin talco (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubo de microcentrifugación de 1,5 mL
- Kit de extracción de ácido nucleico (véase Extracción de Ácido Nucleico)
- Máquina de hielo
- Centrífuga de sobremesa
- Mezclador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR Detection system (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx system (Bio-Rad)
- Tiras de 8 tubos de perfil bajo de 0,2 mL sin tapas (color blanco, Núm. Cat. TLS0851, Bio-Rad)
- Tiras de 8 tapas planas ópticas (Núm. Cat. TCS0803, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco (Núm. Cat. HSP9655, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco, código de barras (Núm. Cat. HSP9955, Bio-Rad)
- Sello de calor permanente y transparente (Núm. Cat. 1814035, Bio-Rad)*
- PX1 PCR Sellador de placas (sellador automático, Núm. Cat. 181-4000, Bio-Rad)*
- Mesa de trabajo limpia

* Asegúrese de usar el sello térmico y el sellador de placas listados arriba juntos.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PROTOCOLO**1. Recogida de muestras, almacenamiento y transporte**

Nota: Todas las muestras se deben tratar como material potencialmente infeccioso. Solo se permiten los materiales de las muestras que se recojan, almacenen y transporten de acuerdo con las siguientes normas e instrucciones de forma rigurosa.

Líquido cerebroespinal (CSF)

Nota: Para asegurar la alta calidad de las muestras, deben ser transportadas tan rápido como sea posible, a las temperaturas indicadas.

A. Recogida de muestras**Líquido cerebroespinal (CSF)**

- El médico es el encargado de recoger el *líquido cerebroespinal* (CSF) de modo aséptico, en un recipiente estéril usando técnicas de aspiración.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

Muestras	Almacenamiento y transporte		Nota
	Temp.	Duración*	
Líquido cerebroespinal (CSF)	2~8°C	5 días	- El rendimiento puede verse afectado por el almacenamiento prolongado de las muestras. - Las muestras también deben adherirse a las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno.

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

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Extracción de ácido nucleico

A. Control Interno (IC)

Nota: IC se incluye en el kit para permitir al usuario confirmar no solo el procedimiento de extracción de ácido nucleico, sino también para identificar cualquier inhibición de PCR.

- Deben añadirse 10 µL de MG-V1 IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico.
- El CI puede añadirse directamente al tampón de lisis o a la mezcla de muestras y al tampón de lisis.
- Cuando utilice este producto con Allplex™ Meningitis-V2 Assay, deben ser añadidos **ambos** MG-V1 IC y MG-V2 IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico.
- Cuando utilice este producto con Allplex™ Meningitis-B Assay, debe ser añadido MG-V1 IC o MG-B IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico.
- Cuando utilice este producto con Allplex™ Meningitis-V2 Assay y Allplex™ Meningitis-B Assay, **ambos**, MG-V1 (o MG-B) IC y MG-V2 IC deben ser añadidos antes de la extracción de ácido nucleico.

Nota: En caso de añadir directamente al tampón de lisis, tenga cuidado de no introducir burbujas de aire.

B. Kit de extracción de ácido nucleico manual

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

Kit de extracción	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
QIAamp® DSP DNA Mini Kit	QIAGEN	61304	Muestra: 200 µL Elución: 50 µL
QIAamp® DNA Mini Kit	QIAGEN	51304	Muestra: 200 µL Elución: 50 µL
Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	GeneAll	302-150 SG1701*	Muestra: 300 µL Elución: 50 µL

* Si quiere comprar este producto de Seegene Inc., use este número de catálogo.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Sistema de extracción de ácido nucleico automatizado

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

C-1. NucliSENS® easyMAG®

- Proceda a la extracción usando el '**generic protocol**'.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
NucliSENS® easyMAG®	bioMérieux	200111	Muestra: 200 µL Sílice magnético: 50 µL Elución: 100 µL

3. Preparación de PCR en tiempo real

Nota: Deben usarse tubos y tapas adecuados (véase MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS).

Nota: Deben usarse filtros resistentes a los aerosoles y guantes ajustados al preparar las reacciones de PCR de un solo paso. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: Descongele totalmente todos los reactivos en baño de hielo.

Nota: Centrifugue brevemente los tubos de reactivos para recoger las gotas residuales de dentro de la tapa.

A. Prepare la Mastermix de PCR

5 µL	MG-V1 MOM
5 µL	EM4
5 µL	EM4 Buffer
15 µL	Volumen total de Mastermix de PCR

Nota: Calcule la cantidad total necesaria de cada reactivo, con base en la cantidad de reacciones, incluyendo muestras y controles.

B. Mezcle rápido en un mezclador de vórtice y centrifugue brevemente.

C. Utilice una parte proporcional de 15 µL de Mastermix de PCR en los tubos de PCR.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

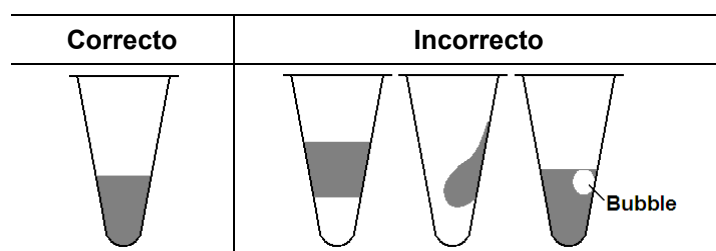
D. Añada 5 µL de los ácidos nucleicos de cada muestra en el tubo que contiene la Mastermix de PCR.

15 µL	Mastermix de PCR
5 µL	Ácido nucleico de la muestra
20 µL	Volumen total de la reacción

E. Cierre y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

F. Verifique que el líquido que contiene todos los componentes de PCR se encuentre en el fondo de cada tubo de PCR. Si no es así, centrifugue de nuevo a mayores rpm durante 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: Con cada muestra, use una nueva punta de pipeta estéril.

Nota: Para el **Control Negativo (NC)**, use 5 µL de RNase-free Water en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el **Control Positivo (PC)**, use 5 µL de MG-V1 PC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Por favor tenga cuidado de que no se produzca una contaminación cruzada de la mastermix PCR y de las muestras con el Control Positivo.

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

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS
1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
1.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: La configuración del experimento en el CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start Run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

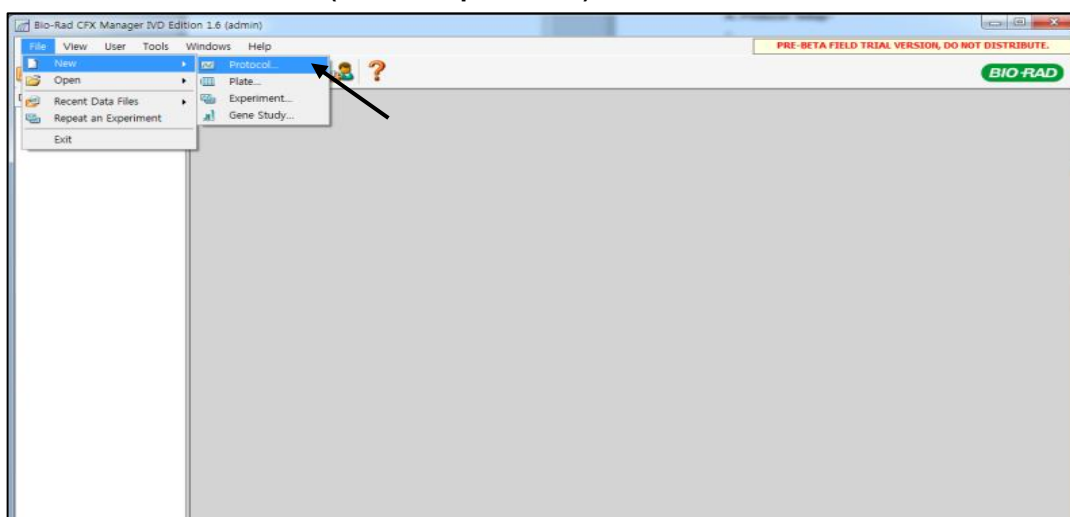


Fig. 1. **Protocol Setup (Configuración del protocolo)**. Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para iniciar el ciclo

2) En el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

Paso	No. de ciclos	Temp.	Duración
1	1	50 °C	20 min
2		95 °C	15 min
3		95 °C	10 seg
4*	45	60 °C	15 seg
5*		72 °C	10 seg
6	GOTO Paso 3, 44 veces más		

Nota*: Lectura de la placa en el paso 4 y 5. La fluorescencia se detecta a 60°C y 72°C.

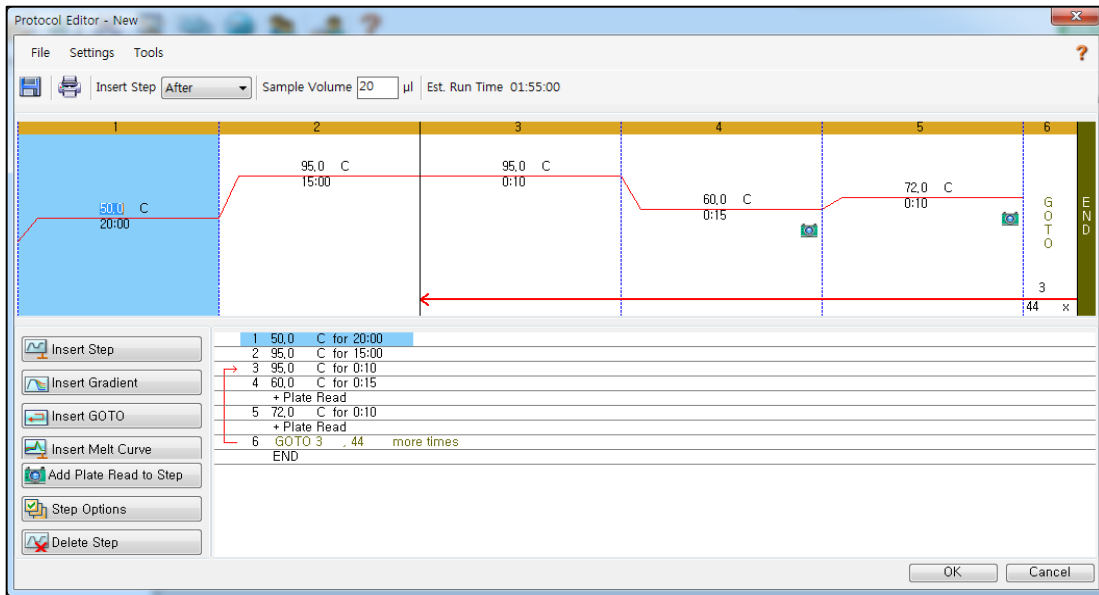


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

- 3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.
- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

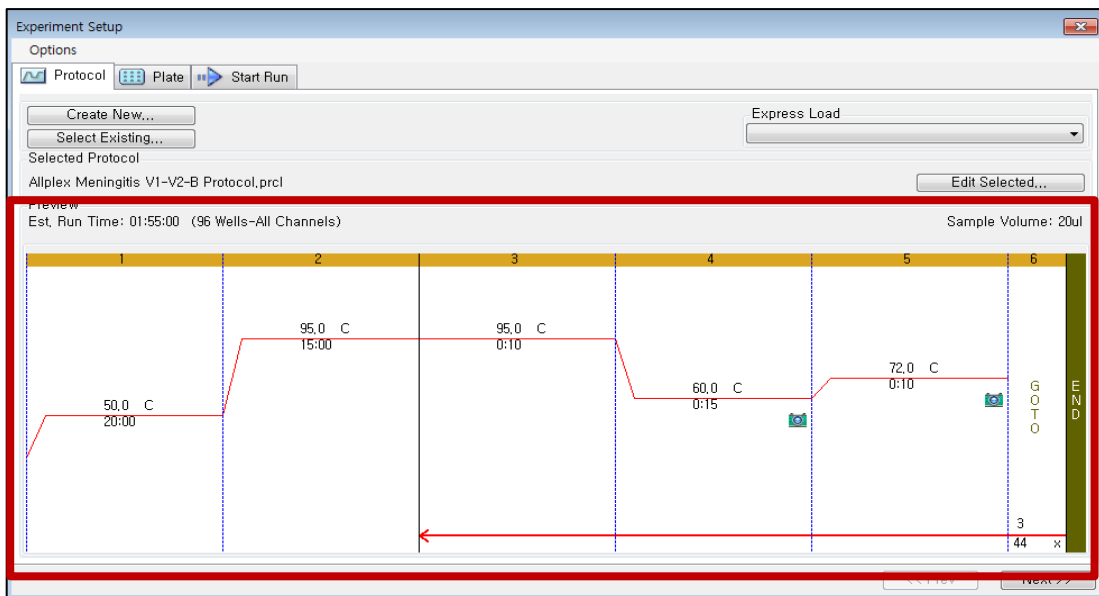


Fig. 3. Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

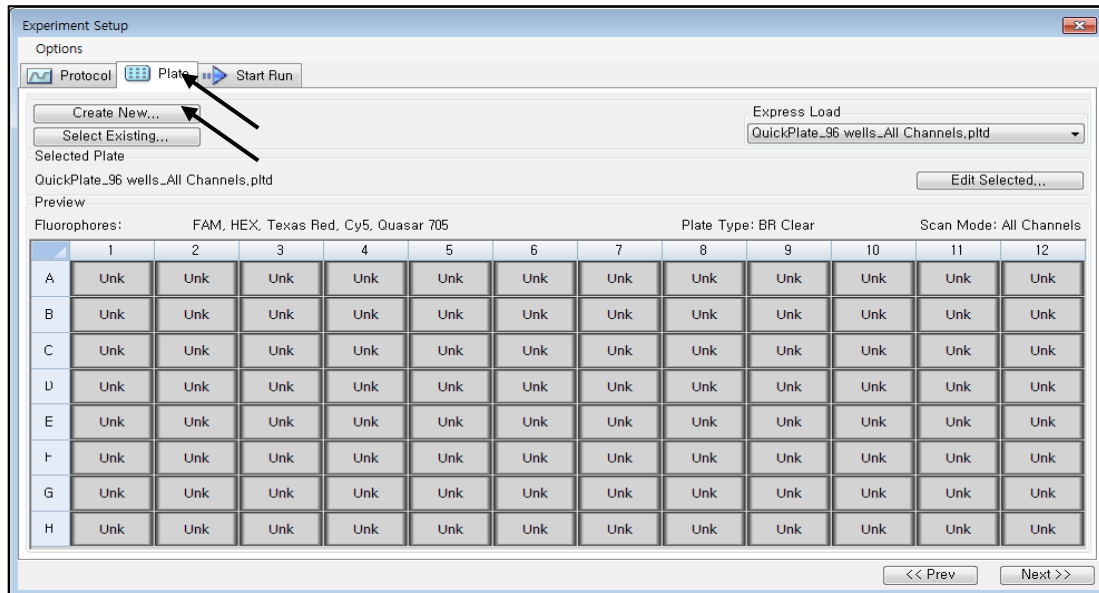


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placa)**. Crear una nueva placa

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

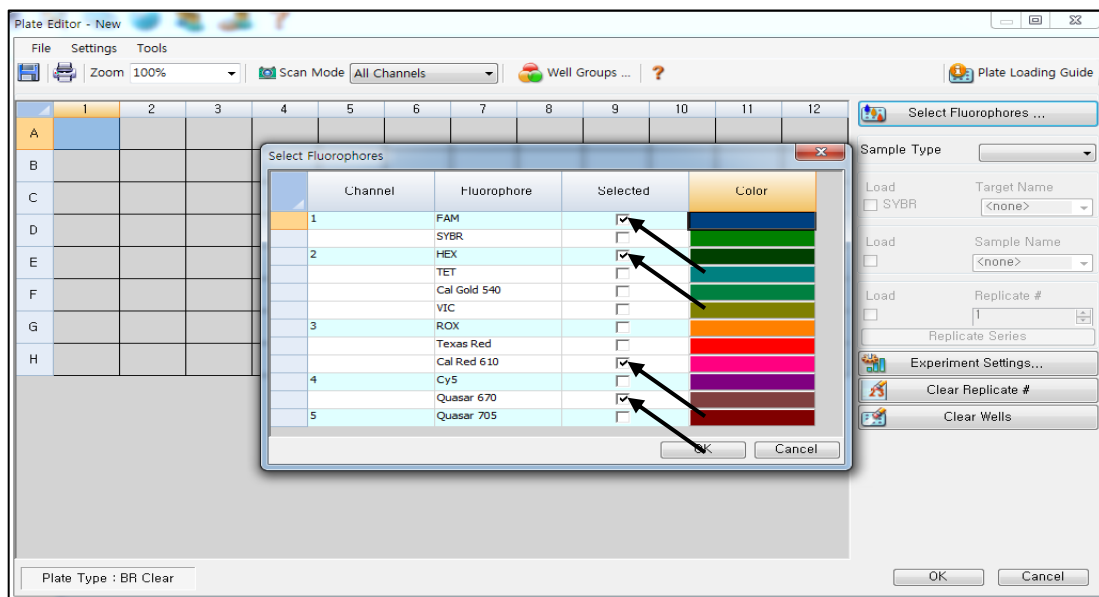


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)

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

- **Unknown (Desconocidos)**: muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

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

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

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

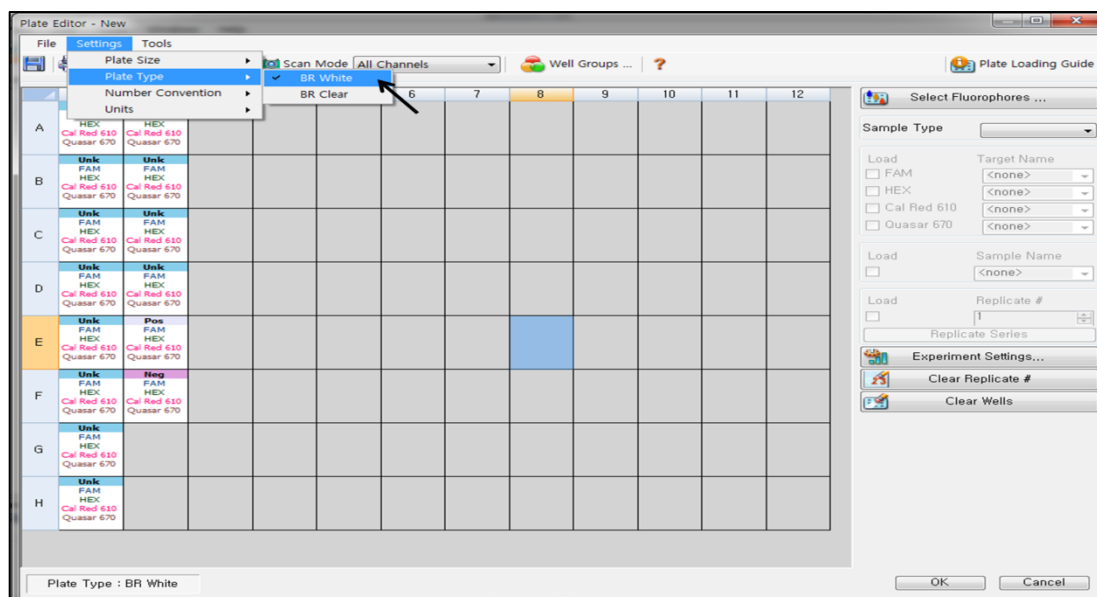


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

8) Regresará a la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

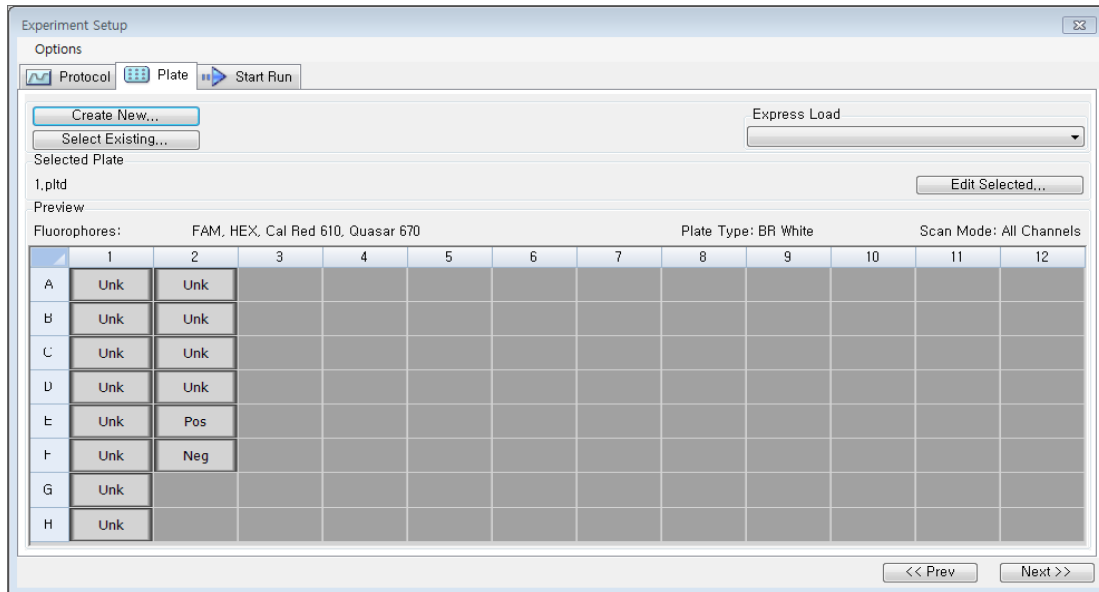


Fig. 7. Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para ir a Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

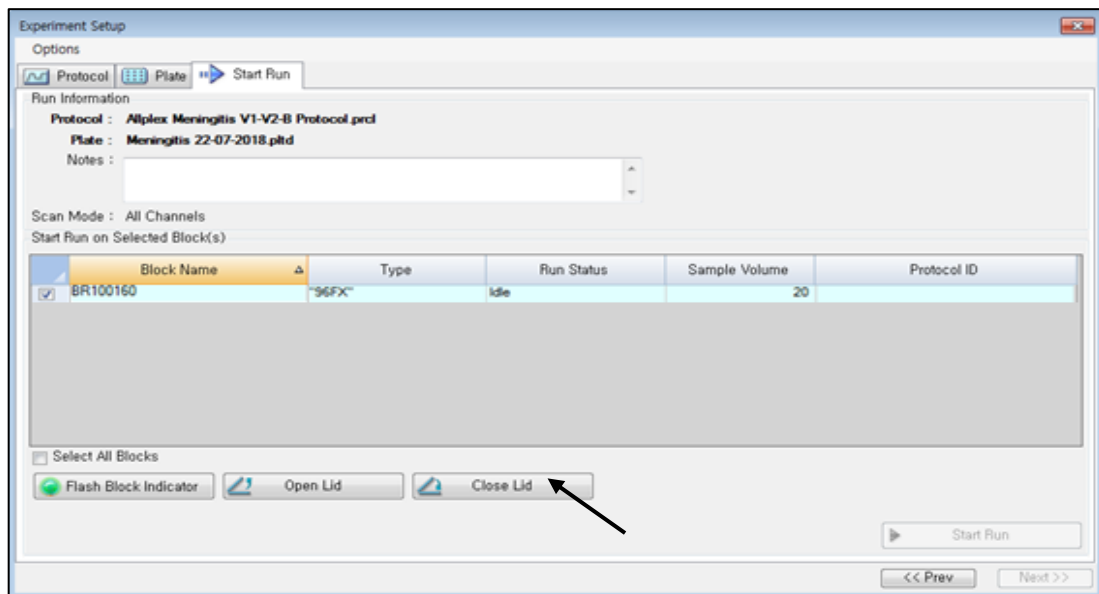


Fig. 8. Close Lid (Cerrar tapa)

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

Dra. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

1.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Cree una nueva carpeta para guardar los resultados de detección de la curva de amplificación.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep4" y "QuantStep5" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

B. Configuración previa para el análisis de datos en CFX Manager™

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

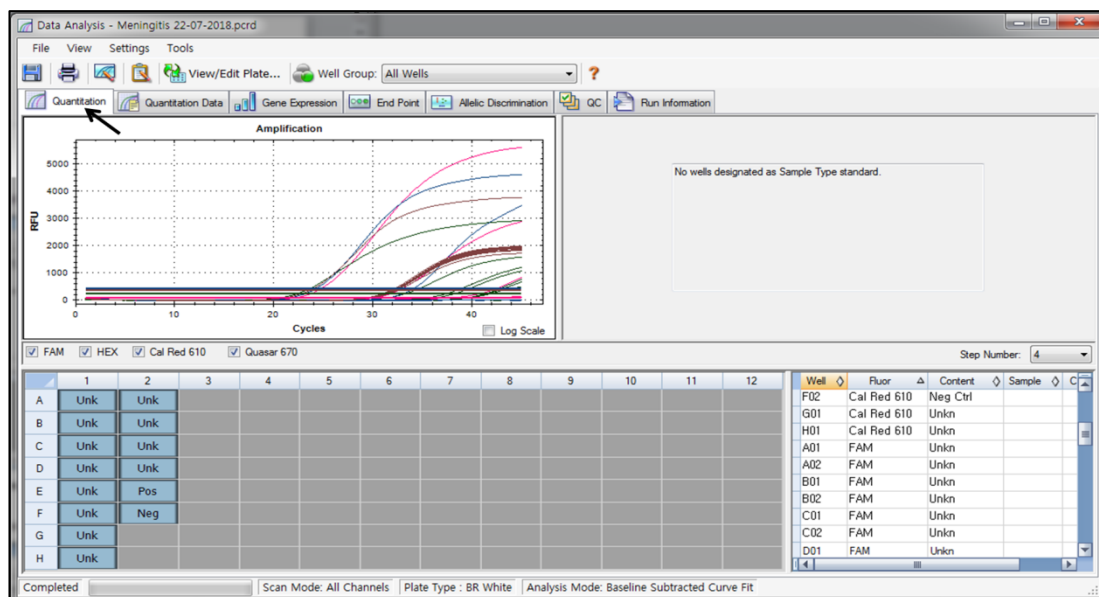


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el Analysis Mode (Modo Análisis) del menú Settings (Configuración).

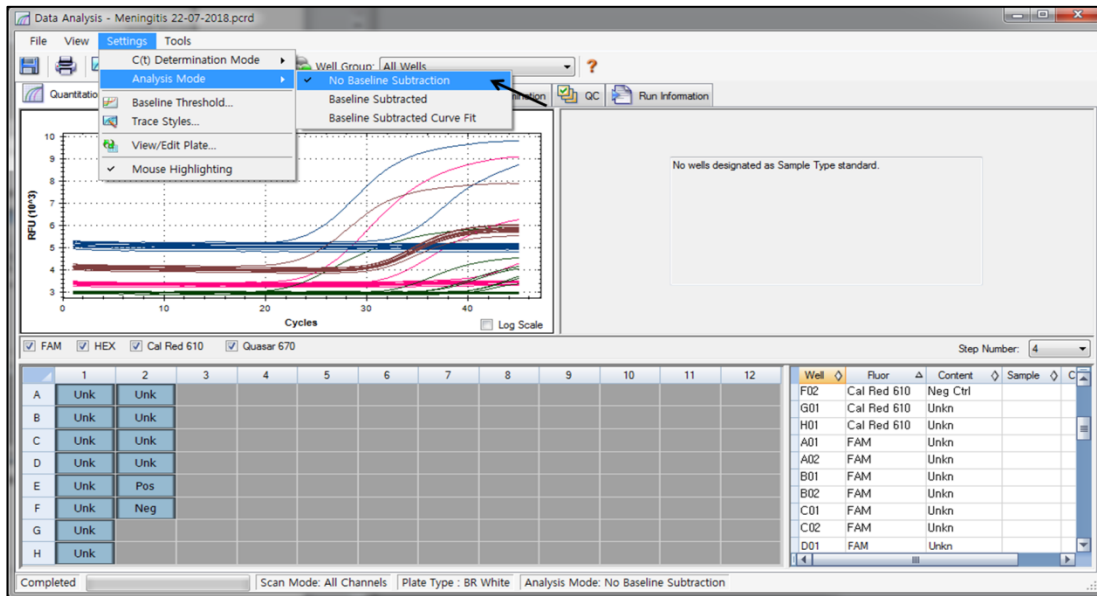


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)**

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación de Seegene)** en el menú Tools (Herramientas).

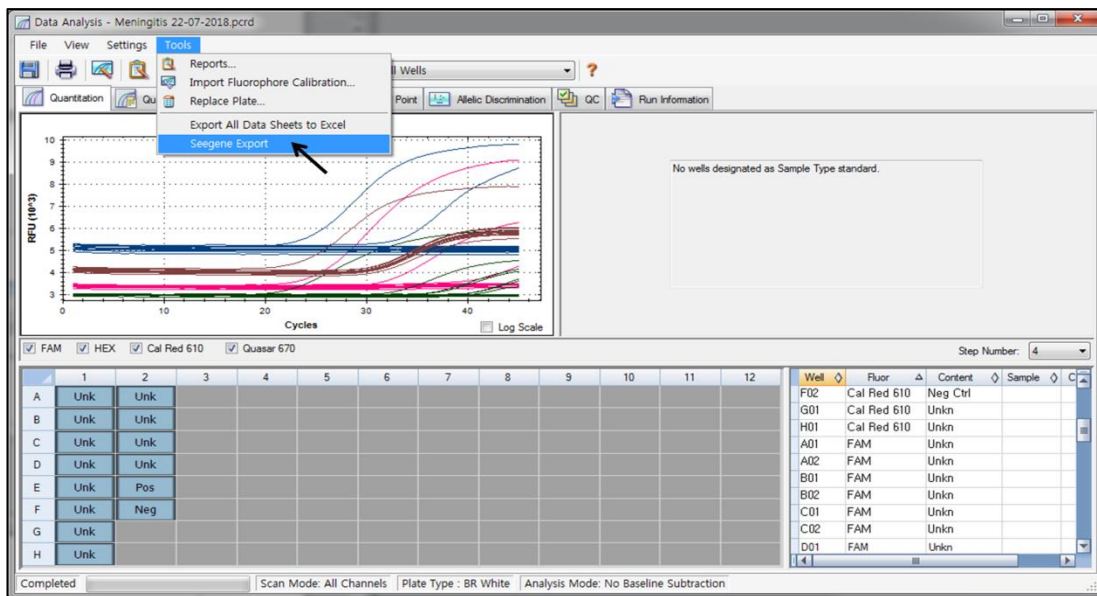


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

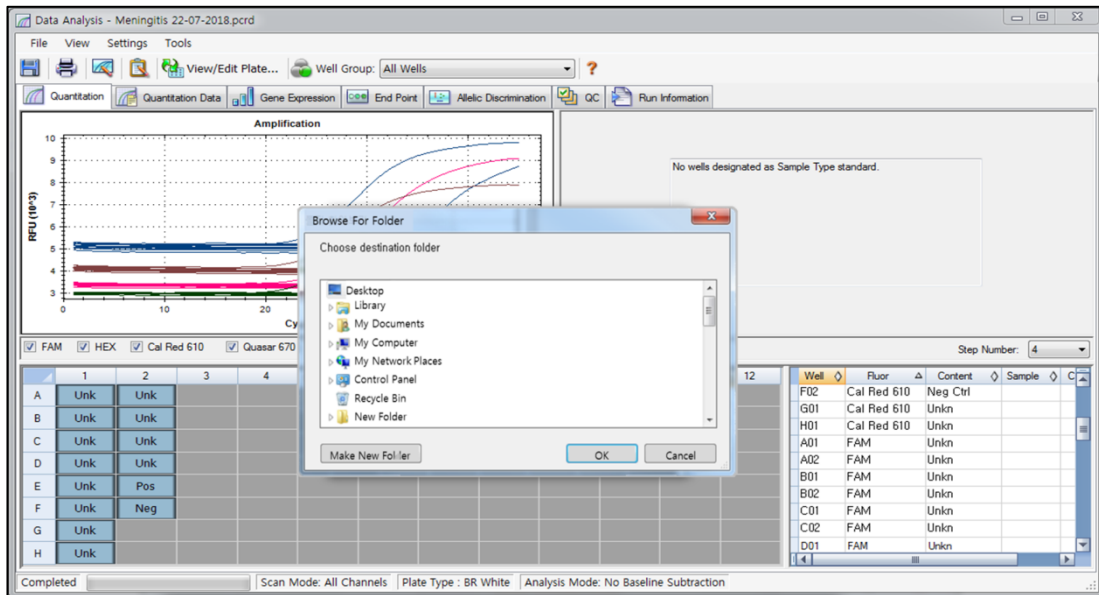


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

C. Configure el análisis de datos en Seegene Viewer

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

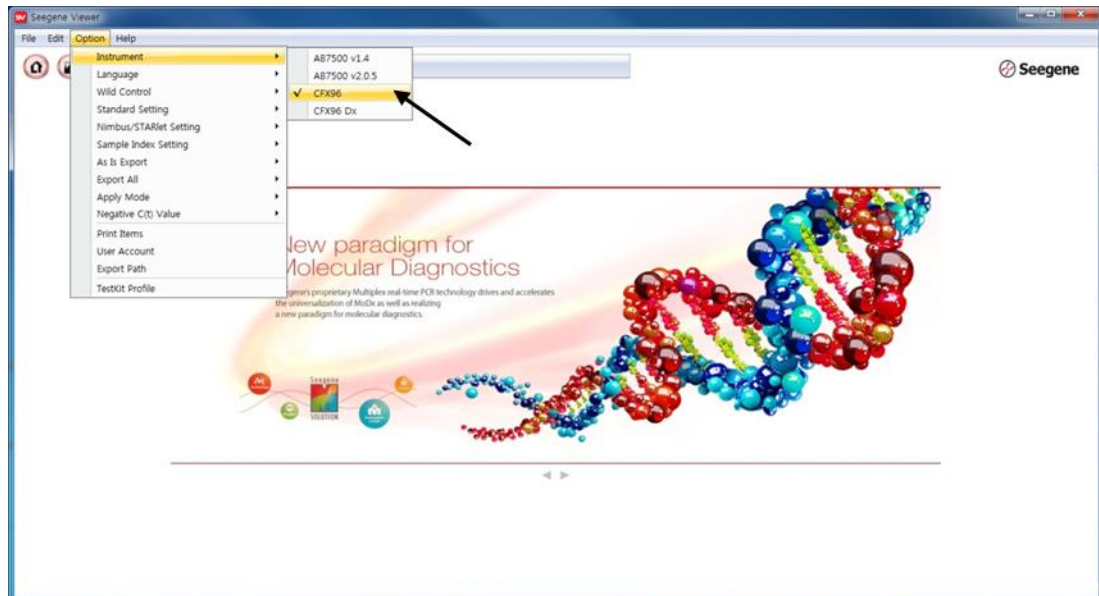


Fig. 13. Seegene Viewer

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para explorar los archivos guardados en la carpeta “QuantStep4”, abra el archivo de los resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

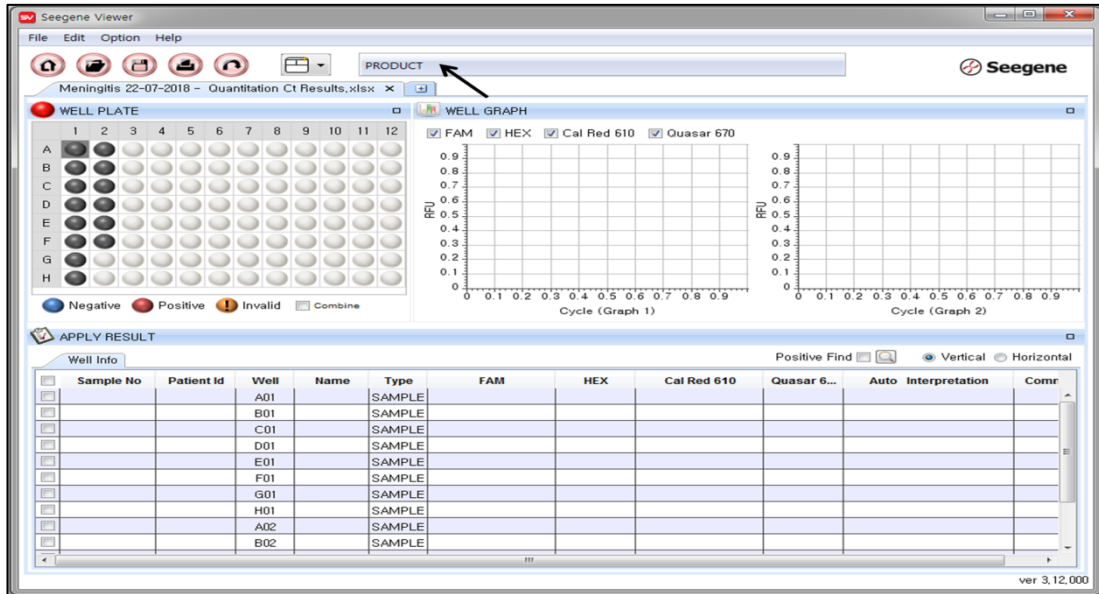


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

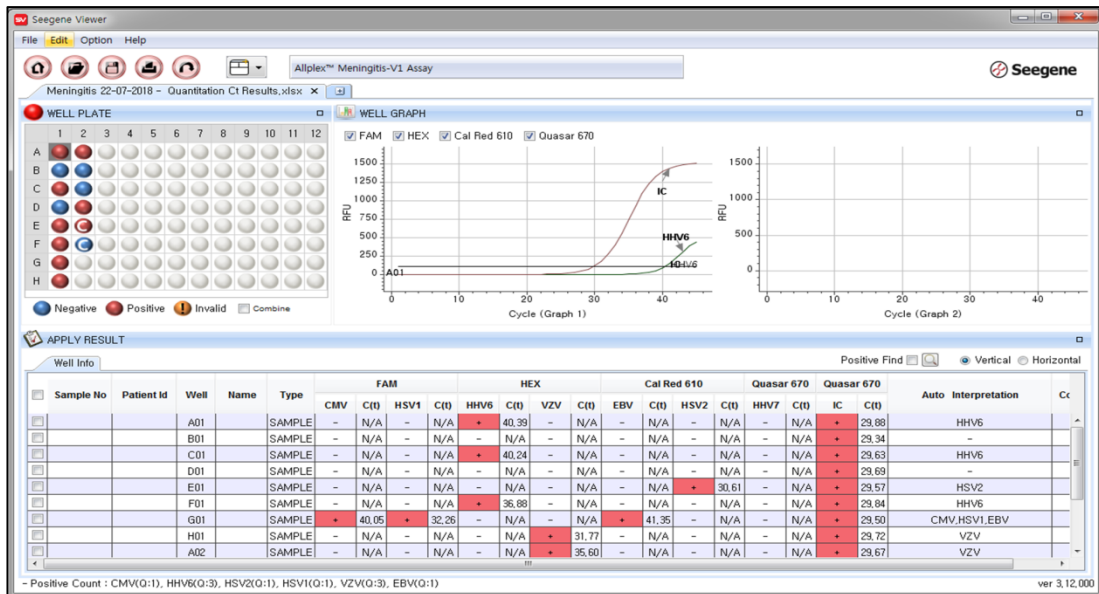


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Criterios de validación de los resultados del control
a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez del experimento, la reacción de PCR incluye Control Positivo (PC) y Control Negativo (NC). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

Control	Resultado de Seegene Viewer								Interpretación automática
	FAM (C _t)		HEX (C _t)		Cal Red 610 (C _t)		Quasar670 (C _t)		
	CMV	HSV1	HHV6	VZV	EBV	HSV2	HHV7	IC	
MG-V1 Control Positivo	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	Control Positivo (+)
Control Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo (-)

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos de falla en la validación, los resultados no se deben interpretar ni notificar, y se debe repetir la reacción del PCR

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)

2.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: la configuración del experimento para CFX96™ Dx System (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos: Protocol Setup (Configuración de protocolo), Plate Setup (Configuración de placa) y Start run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

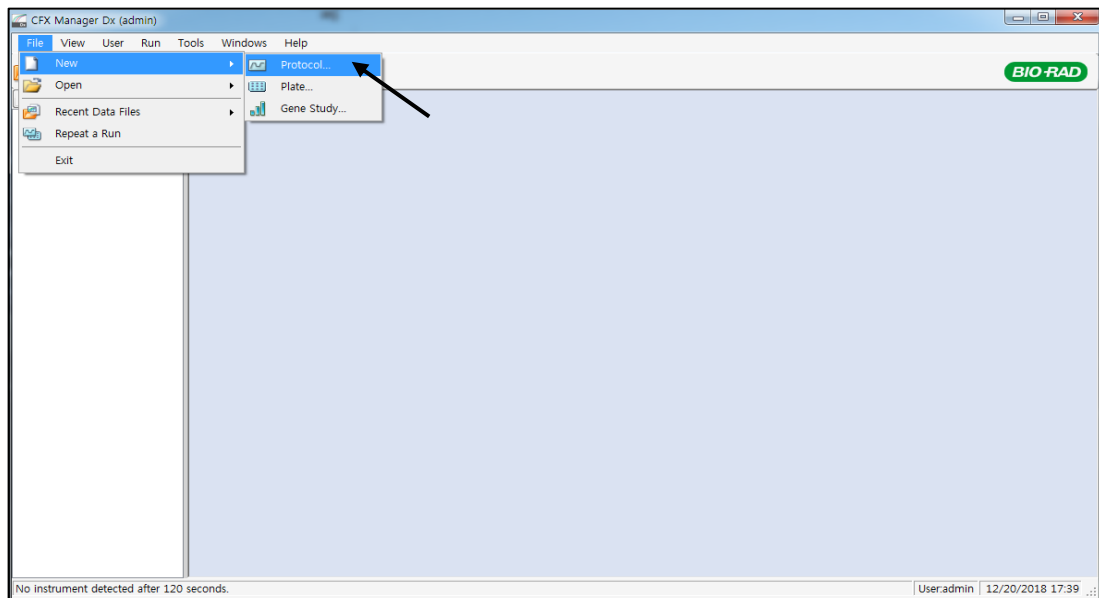


Fig. 1. **Protocol Setup (Configuración del protocolo)**. Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para iniciar el ciclo

2) En el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

Paso	No. de ciclos	Temp.	Duración
1	1	50°C	20 min
2		95°C	15 min
3	45	95°C	10 seg
4*		60°C	15 seg
5*		72°C	10 seg
6	GOTO Paso 3, 44 veces más		

Nota*: Lectura de la placa en el paso 4 y 5. La fluorescencia se detecta a 60°C y 72°C.

*Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.*

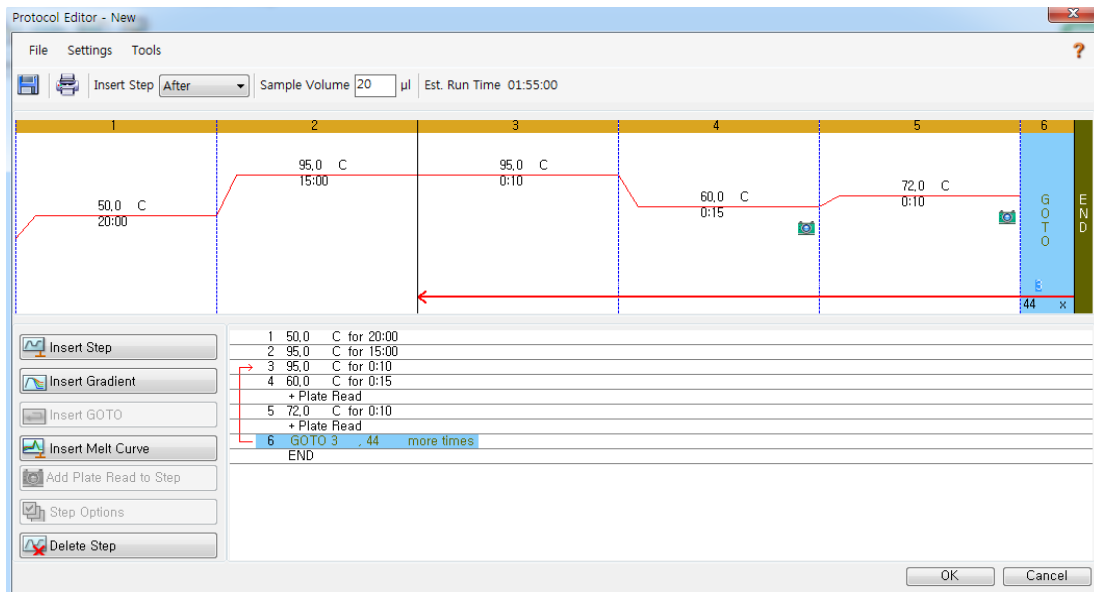


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

- 3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 μ L.
- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup (Configuración de Ejecución)**.

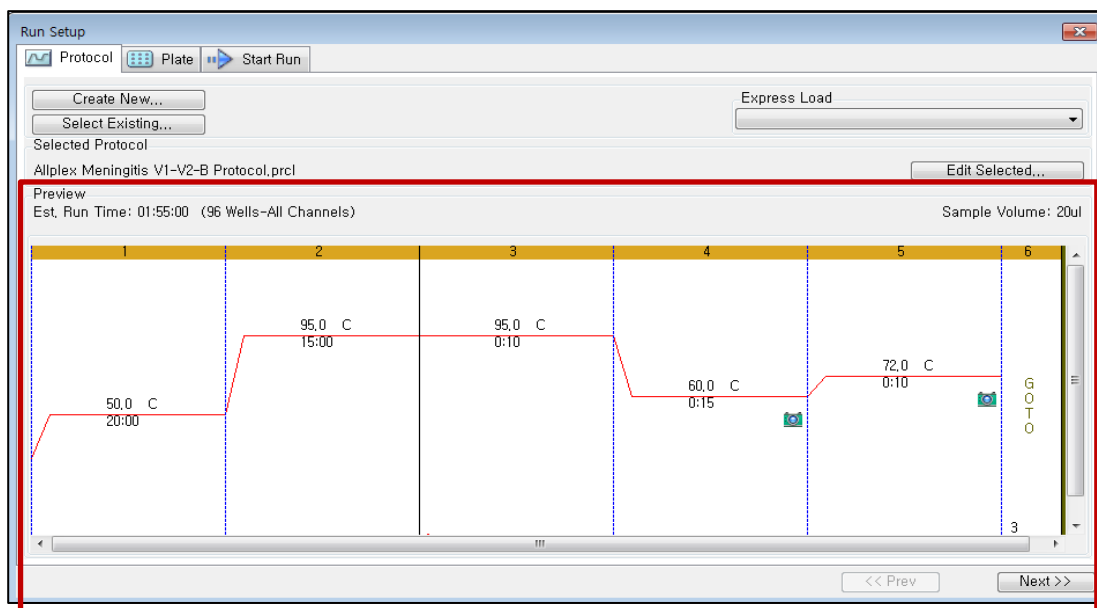


Fig. 3. Run Setup (Configuración de Ejecución): Protocol (Protocolo)

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) Desde la pestaña **Plate (Placa)** del menú **Run Setup (Configuración de Ejecución)**, haga clic en **Create New (Crear Nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de Placas)**.

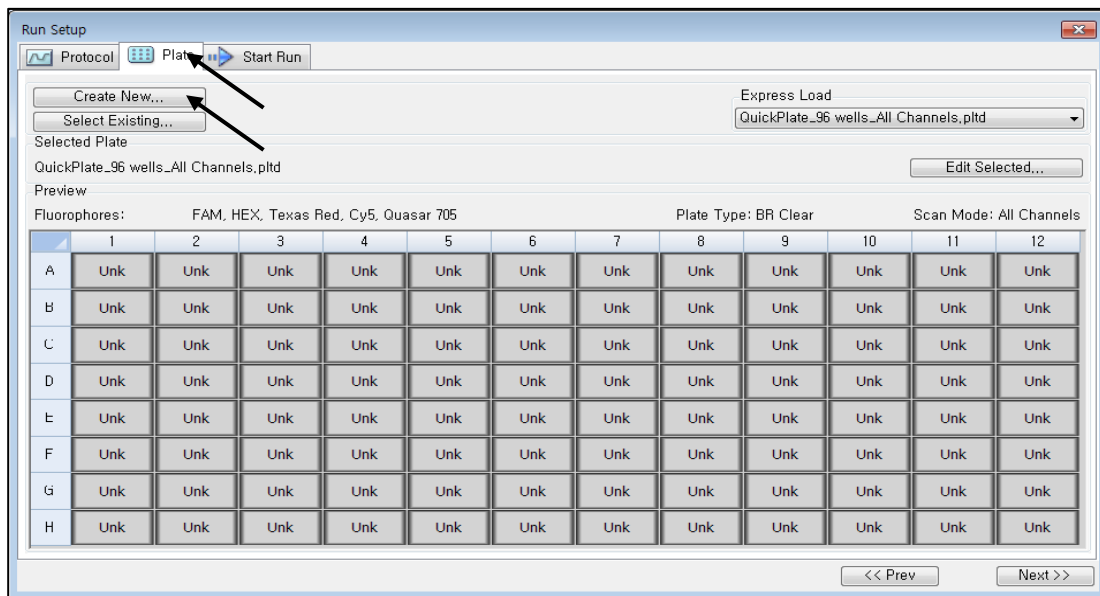


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de Placa)**. Crear una nueva placa

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

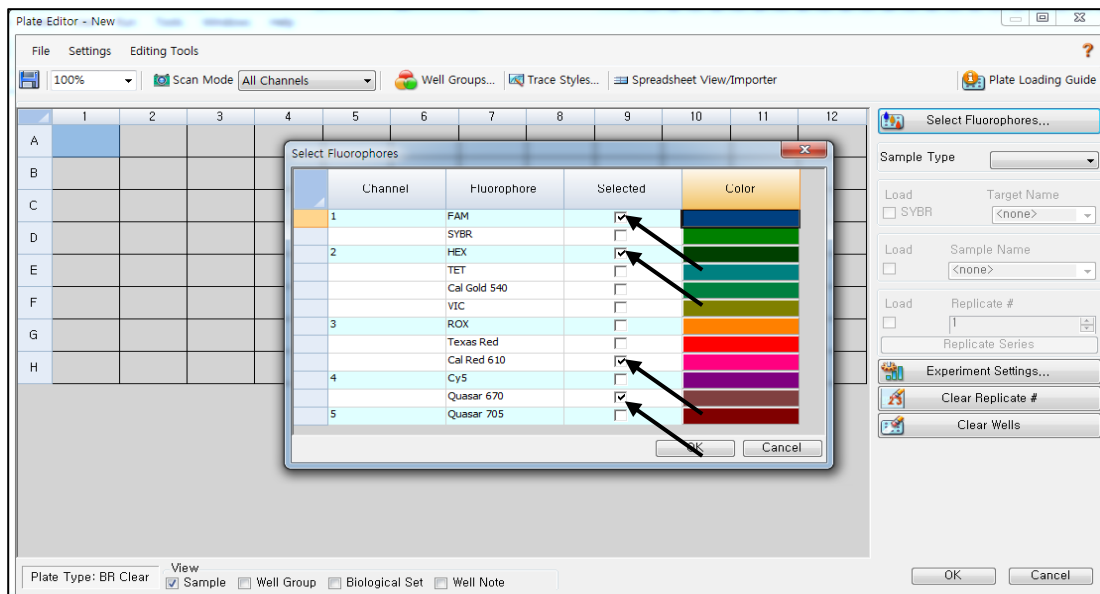


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)

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

- **Unknown (Desconocidos):** muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

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

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

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

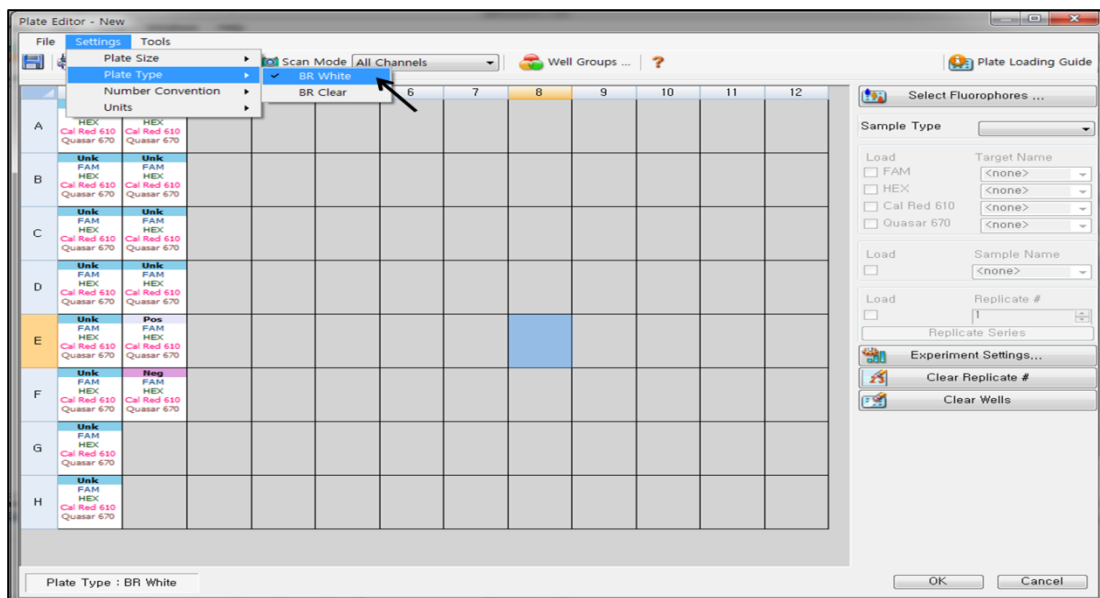


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

8) Vuelva a la ventana **Run Setup (Configuración de Ejecución)**.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

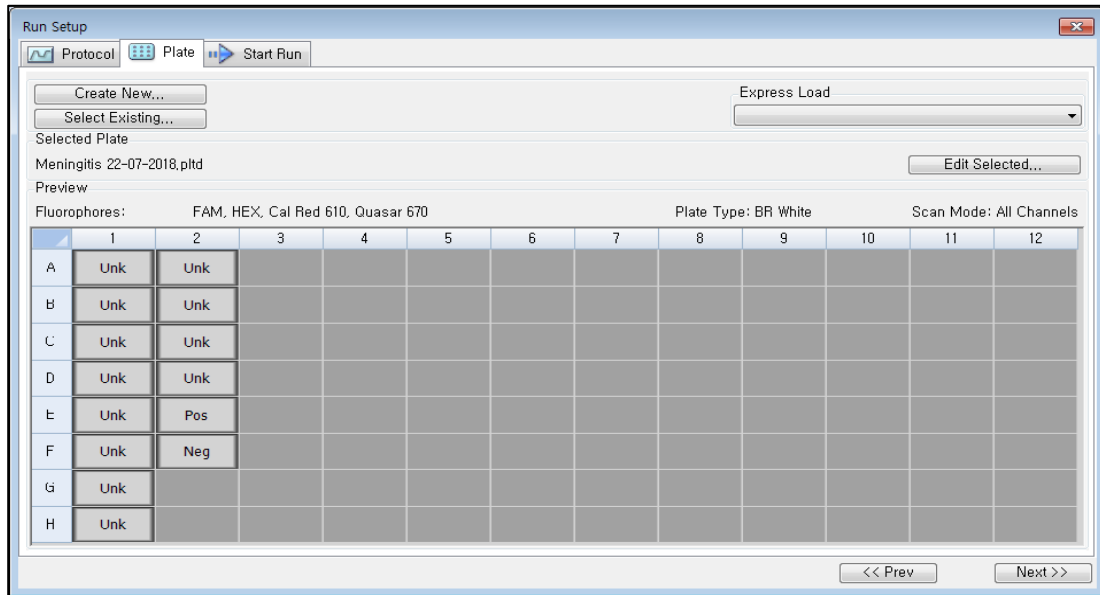


Fig. 7. Run Setup (Configuración del Ejecución): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para ir a Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) Desde la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Run Setup (Configuración de Ejecución)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar Tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

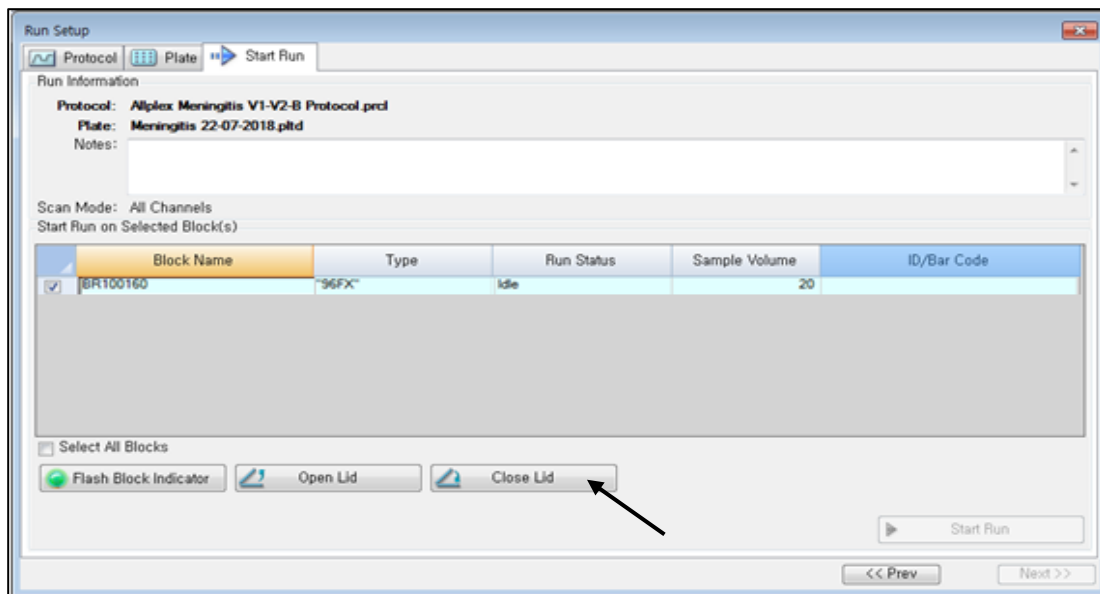


Fig. 8. Close Lid (Cerrar tapa)

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

2.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Cree una nueva carpeta para guardar los resultados de detección de la curva de amplificación.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep4" y "QuantStep5" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

B. Configuraciones predeterminadas para análisis de datos en el CFX Manager™

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

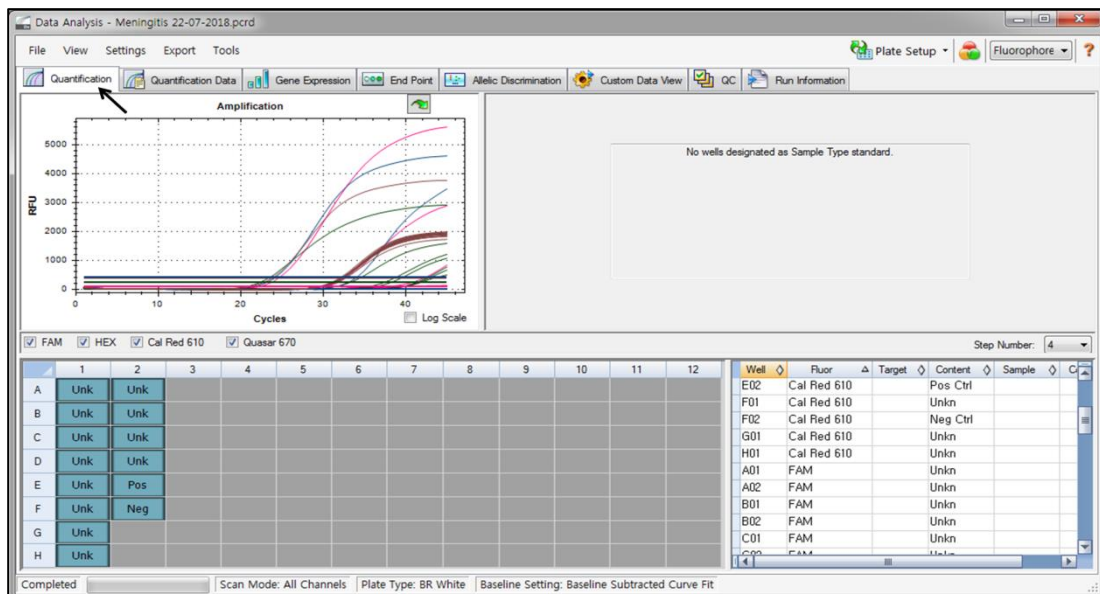


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el menú Settings (Configuración) de Baseline Setting (Configuración de valor basal).

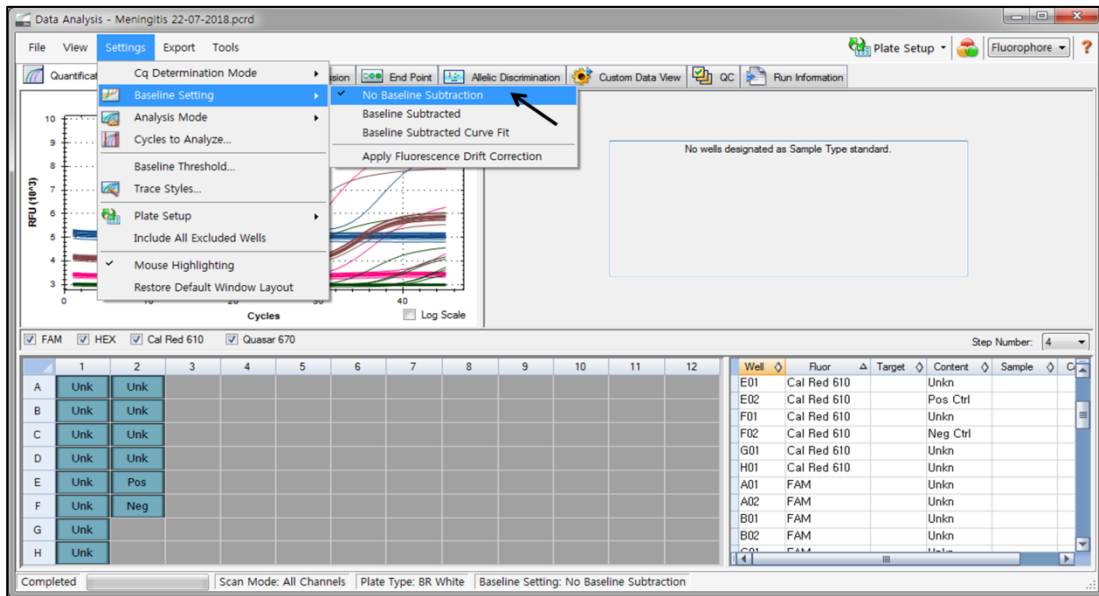


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)**

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación de Seegene)** del menú Export (Exportación).

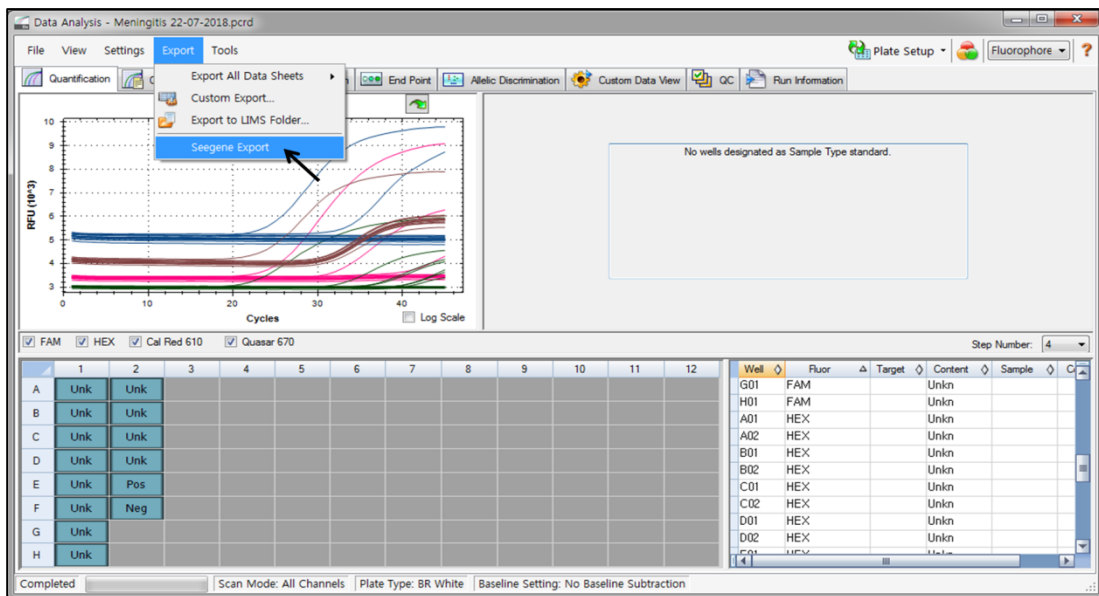


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

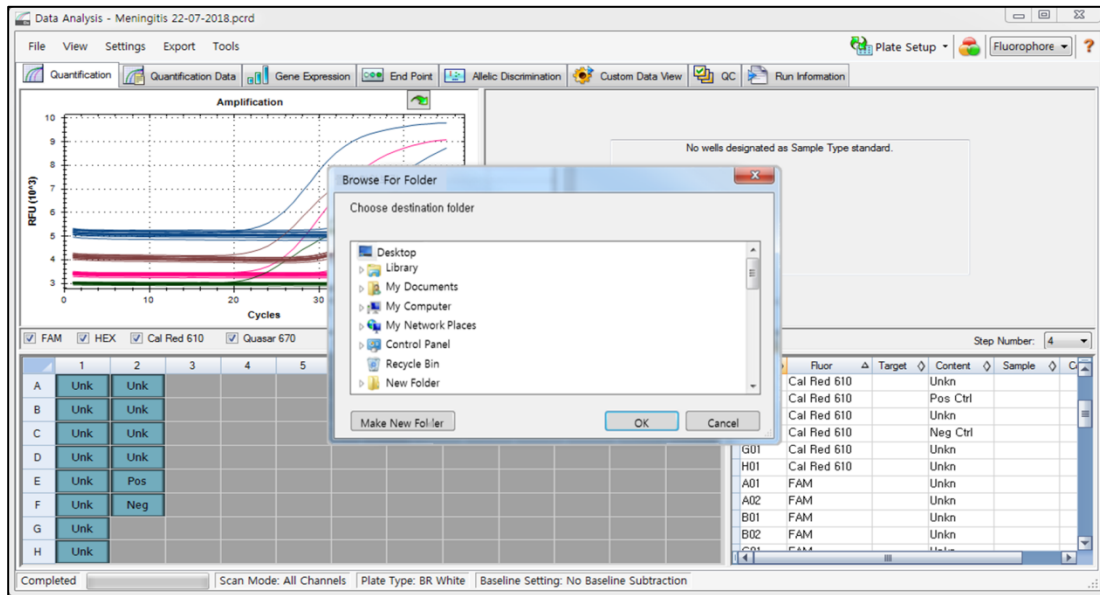


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

C. Configure el análisis de datos en Seegene Viewer

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

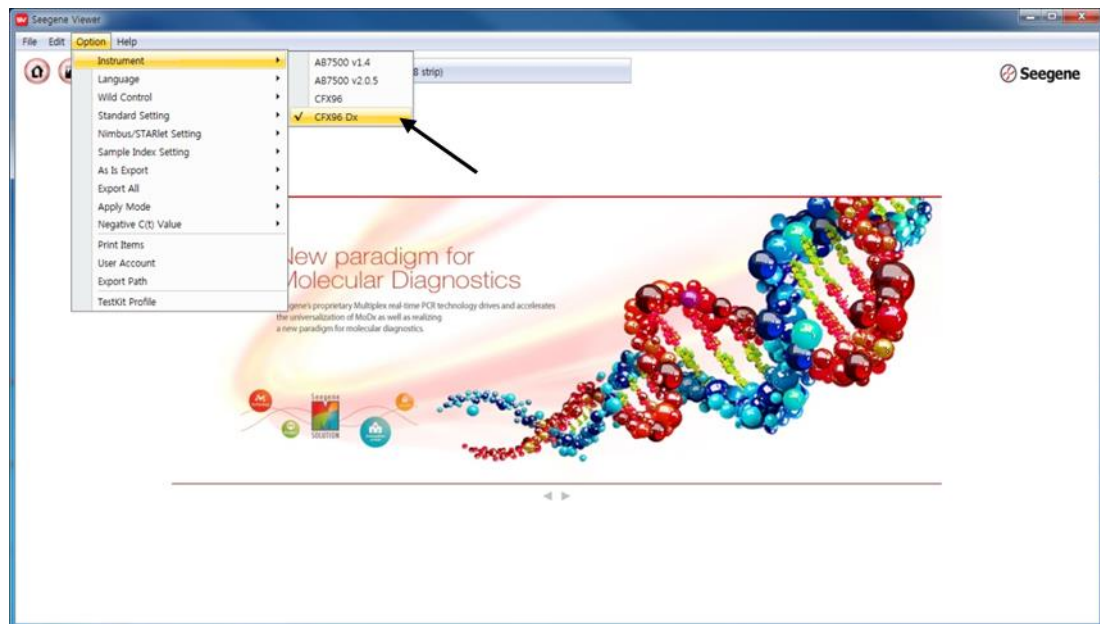


Fig. 13. Seegene Viewer

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para explorar los archivos guardados en la carpeta “QuantStep4”, abra el archivo de los resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT** (**PRODUCTO**).

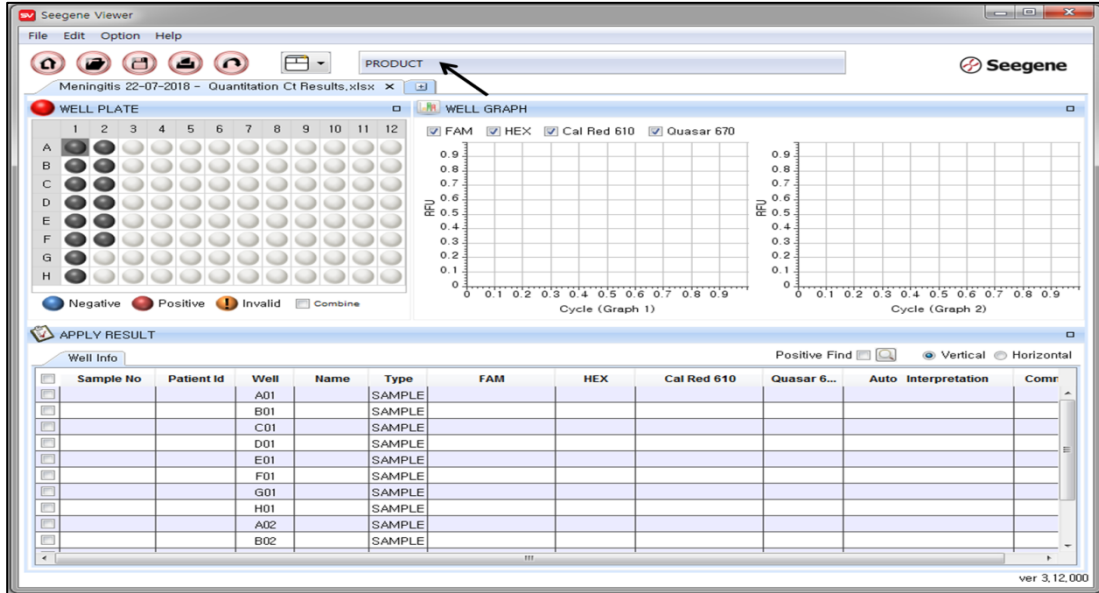


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

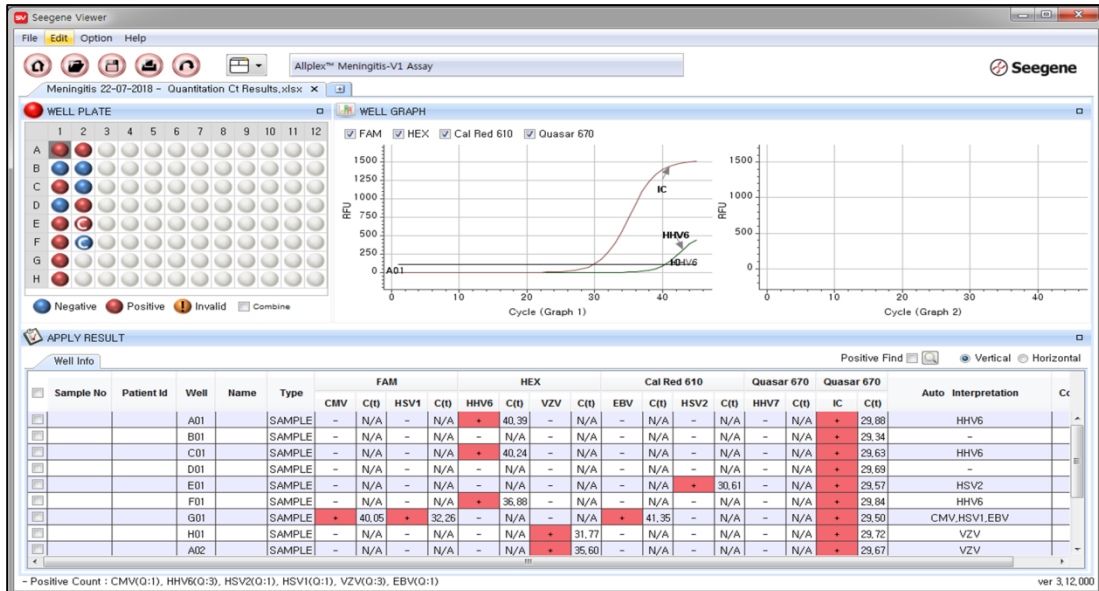


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Criterios de validación de los resultados del control
c. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez del experimento, la reacción de PCR incluye Control Positivo (PC) y Control Negativo (NC). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

Control	Resultado de Seegene Viewer								Interpretación automática
	FAM (C _t)		HEX (C _t)		Cal Red 610 (C _t)		Quasar670 (C _t)		
	CMV	HSV1	HHV6	VZV	EBV	HSV2	HHV7	IC	
MG-V1 Control Positivo	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	Control Positivo (+)
Control Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo (-)

d. Inicio de ensayo no válido

En los casos de falla en la validación, los resultados no se deben interpretar ni notificar, y se debe repetir la reacción del PCR

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

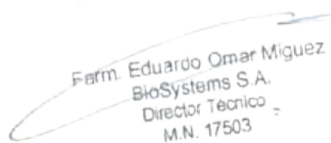
Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RESULTADOS
1. Información de los analitos

Fluoróforo	Analito	
	Gráfico 1	Gráfico 2
FAM	Cytomegalovirus (CMV)	Herpes simplex virus 1 (HSV1)
HEX	Human herpesvirus 6 (HHV6)	Varicellar-zoster virus (VZV)
Cal Red 610	Epstein-Barr virus (EBV)	Herpes simplex virus 2 (HSV2)
Quasar 670	Control Interno (IC)	Human Herpes Virus Type 7 (HHV7)

2. Interpretación de los resultados

Valor C_t	Resultado
≤ 45	Detectado (+)
N/A	No detectado (-)


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


 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

Resultado diana		Resultado IC	Interpretación
Gráfico 1	Gráfico 2		
+	-	+	Ácido nucleico diana, detectado
-	+		
+	+		
+	-	-	Ácido nucleico diana, detectado* - Puede(n) estar presente(s) analito(s) adicionales que no se detectaron.
-	+		
+	+		
-	-	+	Ácido nucleico diana, no detectado
-	-	-	No válido** - Los resultados sugieren una recolección de muestras inadecuada, procesos (es decir, sin agregado de IC exógeno) o presencia de inhibidores. - Repita el test desde la extracción de ácido nucleico usando otra parte alícuota de la muestra original. - Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico diluido, recoja las muestras nuevamente.

* El alto nivel de ácidos nucleicos diana puede causar interferencia en la detección y lectura del control interno. La señal IC no válida no indica que los resultados positivos para los objetivos son inválidos.

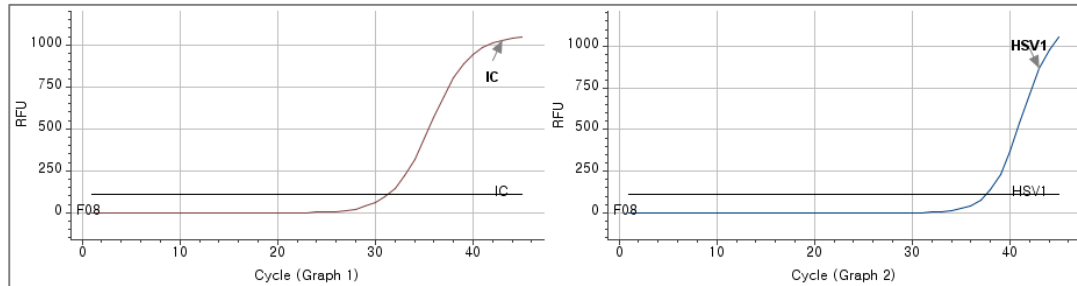
** Consulte la sección de resolución de problemas para obtener instrucciones detalladas.

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

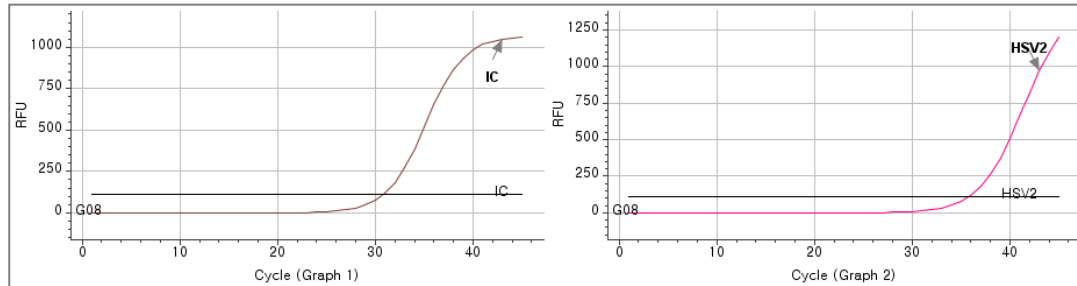
Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Aplicación a muestras clínicas

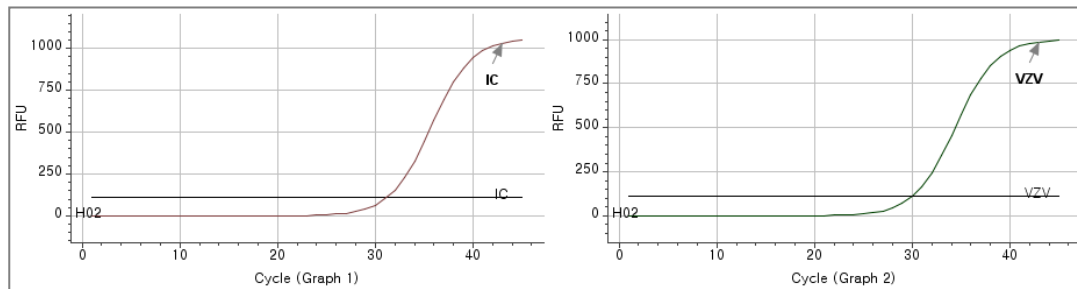
Muestra 1



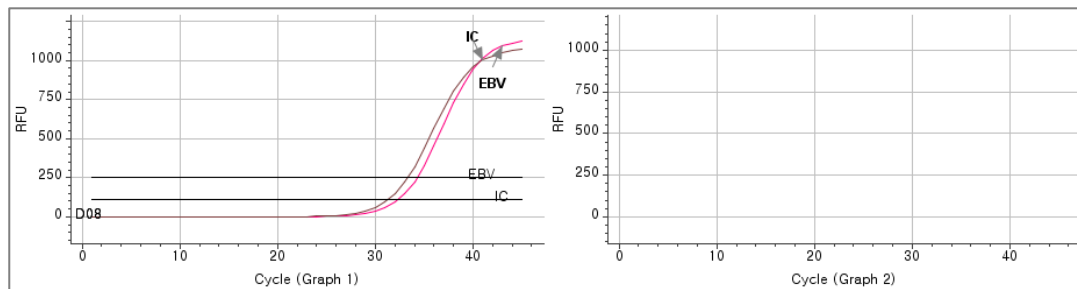
Muestra 2



Muestra 3



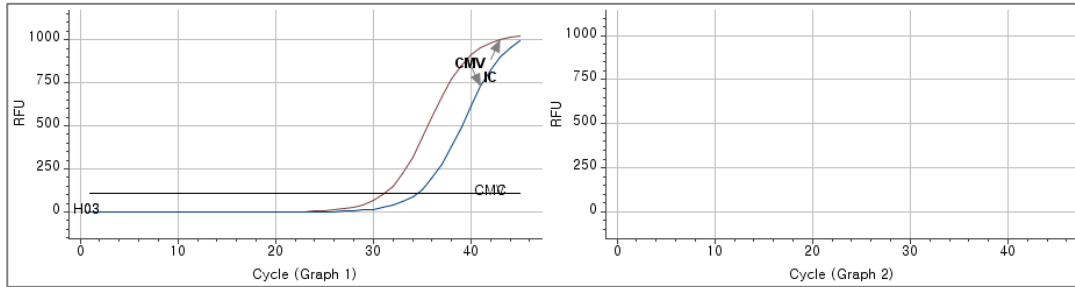
Muestra 4



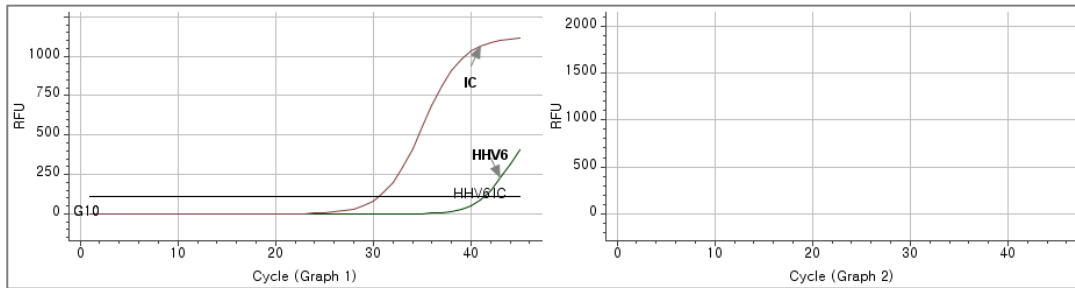
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

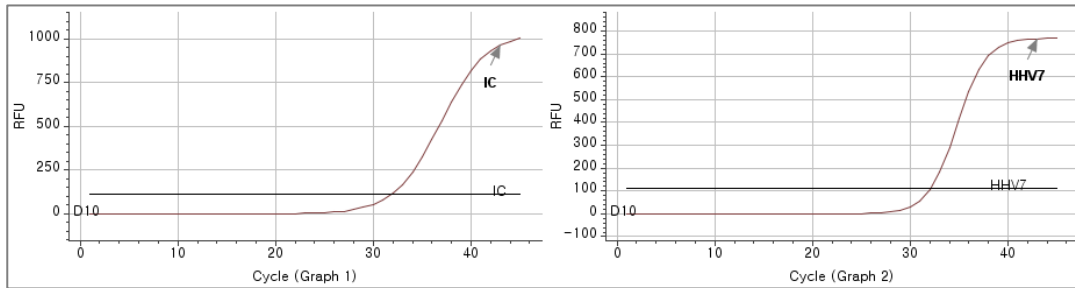
Muestra 5



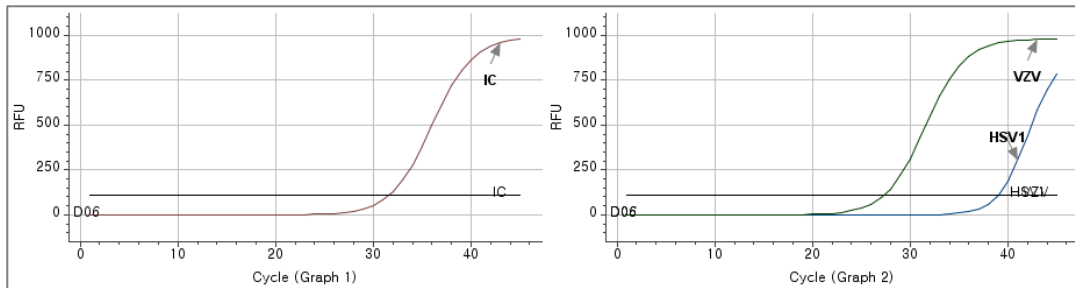
Muestra 6



Muestra 7

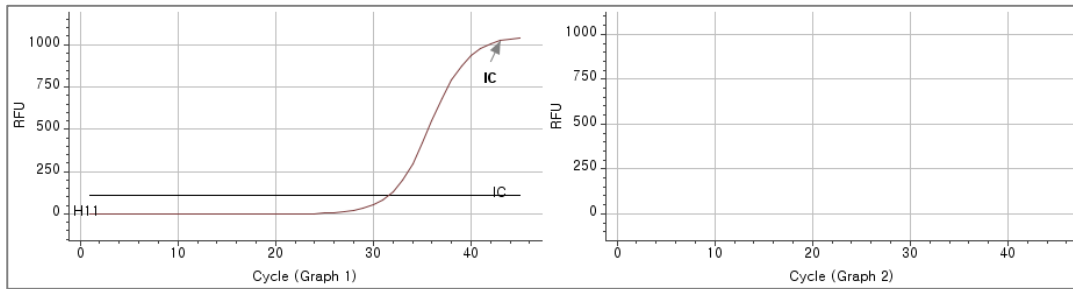


Muestra 8



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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Muestra 9


Muestra	FAM				HEX				Cal Red 610				Quasar 670				Interpretación automática
	CMV	C(t)	HSV1	C(t)	HHV6	C(t)	VZV	C(t)	EBV	C(t)	HSV2	C(t)	HHV7	C(t)	IC	C(t)	
1	-	N/A	+	37,60	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,33	HSV1
2	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	35,76	-	N/A	+	30,83	HSV2
3	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	29,99	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,20	VZV
4	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	34,30	-	N/A	-	N/A	+	31,30	EBV
5	+	34,57	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,23	CMV
6	-	N/A	-	N/A	+	41,37	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	30,62	HHV6
7	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	32,08	+	31,83	HHV7
8	-	N/A	+	39,01	-	N/A	+	27,37	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,64	HSV1, VZV
9	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,62	-

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ Meningitis-V1 Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
No se observa señal	Los fluoróforos del análisis de datos no cumplen con el protocolo	Seleccionar los fluoróforos correctos para el análisis de datos.
	Configuración incorrecta del termociclador en tiempo real	Compruebe las condiciones del ciclo térmico y repita el test con la configuración adecuada.
	Almacenamiento incorrecto o expiración de la fecha de caducidad del kit de la prueba	Compruebe las condiciones de almacenamiento (véase página 8) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit de la prueba y use un nuevo kit si fuese necesario.
	Fallo en la extracción de ácido nucleico	Si se añadió el IC de forma exógena a la muestra antes de la extracción, la ausencia de señal de IC puede indicar una pérdida de ácido nucleico durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado. Si es debido a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra original o puede diluir la muestra en un tampón de solución salina 1/3~1/10 veces y luego añadir MG-V1 IC a la muestra diluida.
No se observa señal de Control Interno	Alta carga de ácido nucleico del patógeno	Si no se observan la señal del patógeno diana ni la de IC, recolecte de nuevo las muestras. Si se observa la señal del patógeno diana, pero no la del IC, entonces la amplificación del IC pudo haberse inhibido por una alta carga del patógeno diana. Para confirmar la señal del IC, diluya la muestra (1/3~1/10) en un tampón de solución salina y repita el test desde el paso de extracción.
	Presencia de inhibidor PCR	Diluya la muestra (1/3~1/10) en un tampón de solución salina y repita el test desde el paso de la extracción.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™ Meningitis-V1 Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
Señal(es) positiva(s) observada(s) en la muestra negativa o señal(es) observada(s) en control negativo	Contaminación	Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Use solo puntas de filtro durante el procedimiento y cámbielas entre cada tubo. Repita el procedimiento entero desde la extracción de ácido nucleico con el nuevo conjunto de reactivos.
No se observan señales ni supuestos falsos negativos en el Control Positivo	Error en la recogida de muestras	Compruebe el método de recogida de la muestra y vuelva a recogerla.
	Almacenamiento incorrecto de la muestra	Vuelva a recoger la muestra y repita todo el procedimiento. Asegúrese de que la muestra se almacena de la manera recomendada.
	Error en la extracción de ácido nucleico	Compruebe el procedimiento de extracción del ácido nucleico, así como la concentración de ácido nucleico y vuelva a extraerlo.
	Error al añadir ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes	Compruebe los números de muestra de los tubos que contienen el ácido nucleico y asegúrese de añadir ácido nucleico a los tubos de PCR adecuados. Repita cuidadosamente la prueba si fuese necesario.
	Presencia de inhibidor	Diluya la muestra (1/3~1/10) en un tampón de solución salina y repita el test desde el paso de la extracción.
	Mezcla de PCR incorrecta	Confirme que todos los componentes se añadan a la mezcla de PCR (la sensibilidad puede verse afectada por las premezclas anteriormente realizadas). Deben homogeneizarse todos los reactivos y centrifugarse antes de usar.
Picos en los ciclos de la curva de amplificación	Burbujas en el tubo de PCR	Centrifugue el tubo de PCR antes del inicio.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RENDIMIENTO
1. Especificidad

Se probó la reactividad cruzada de Allplex™ Meningitis-V1 Assay utilizando 107 materiales y organismos estándar, como se indica a continuación. Allplex™ Meningitis-V1 Assay identificó dianas específicas, diseñadas para la detección.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm.	Resultado [†]
1	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	ATCC	VR-260	HSV1 Detectado
2	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	ATCC	VR-733	HSV1 Detectado
3	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	ATCC	VR-1493	HSV1 Detectado
4	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	ATCC	VR-977D	CMV Detectado
5	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	ZMC	NATCMV-0005	CMV Detectado
6	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	QCMD	CMV15150	CMV Detectado
7	Epstein-Barr virus (EBV)	QCMD	EBVAQP03, EBV1604009E	EBV Detectado
8	Epstein-Barr virus (EBV)	ATCC	VR-1492	EBV Detectado
9	Epstein-Barr virus (EBV)	ATCC	VR-602	EBV Detectado
10	Herpes simplex virus 2 (HSV2)	ATCC	VR-540	HSV2 Detectado
11	Herpes simplex virus 2 (HSV2)	ATCC	VR-734	HSV2 Detectado
12	Human herpesvirus 6 (HHV6)	QCMD	HHV6MQP01	HHV6 Detectado
13	Human herpesvirus 6 (HHV6)	ATCC	VR-1480	HHV6 Detectado
14	Human herpesvirus 6 (HHV6)	ZMC	NATHHV6-ST	HHV6 Detectado
15	Human herpesvirus 7 (HHV7)	ZMC	NATHHV7-ST	HHV7 Detectado
16	Varicellar-zoster virus (VZV)	QCMD	VZVAQP02-C, VZV1604002E	VZV Detectado
17	Varicellar-zoster virus (VZV)	ATCC	VR-1367	VZV Detectado
18	<i>Acinetobacter baumannii</i>	KCTC	2508	No detectado
19	<i>Bacillus cereus</i>	KCTC	1661	No detectado
20	<i>Bacillus subtilis</i>	KCTC	1021	No detectado
21	<i>Citrobacter freundii</i>	KCTC	2509	No detectado
22	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	KCTC	3075	No detectado
23	<i>Corynebacterium striatum</i>	BEI	NR-13441	No detectado

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm.	Resultado [†]
24	<i>Corynebacterium urealyticus</i>	ATCC	43042	No detectado
25	Coxsackievirus B1_titering	KBPV	VR-13	No detectado
26	Dengue virus Type 2	BEI	NR-3791	No detectado
27	<i>Escherichia coli</i> (O138:K81(B):H14)	KCTC	2615	No detectado
28	<i>Escherichia coli</i> (O139:K82(B):H1)	KCTC	2616	No detectado
29	<i>Escherichia coli</i> (O8:K85:K99)	KCTC	2618	No detectado
30	<i>Escherichia coli</i> (O9:K35:K99)	KCTC	2617	No detectado
31	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KCCM	42703	No detectado
32	<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i>	KCTC	2361	No detectado
33	<i>Enterococcus faecalis</i>	KCTC	3511	No detectado
34	<i>Enterococcus faecium</i>	KCCM	12450	No detectado
35	<i>Escherichia coli</i>	ATCC	12014	No detectado
36	<i>Escherichia coli</i>	ATCC	25922	No detectado
37	<i>Escherichia fergusonii</i>	KCCM	41428	No detectado
38	<i>Escherichia hermannii</i>	KCTC	22526	No detectado
39	<i>Escherichia vulneris</i>	KCCM	40420	No detectado
40	<i>Haemophilus aegyptius</i>	ATCC	11116	No detectado
41	<i>Haemophilus aphrophilus</i>	KCCM	41597	No detectado
42	<i>Haemophilus ducreyi</i>	KCTC	2745	No detectado
43	<i>Haemophilus haemolyticus</i>	ATCC	33390	No detectado
44	Human Immunodeficiency Virus	ATCC	VR-3245SD	No detectado
45	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KCCM	41043	No detectado
46	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	KCTC	2208	No detectado
47	La Crosse Encephalitis Virus	ATCC	VR-1834	No detectado
48	<i>Listeria ivanovii</i> subsp. <i>Ivanovii</i>	KCTC	3444	No detectado
49	<i>Listeria seeligeri</i>	KCTC	3591	No detectado
50	<i>Listeria innocua</i> Seeliger	ATCC	33091	No detectado
51	Measles Virus	BEI	NR-3847	No detectado
52	Measles Virus	BEI	NR-44362	No detectado
53	<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	KCCM	11497	No detectado

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm.	Resultado†
54	Human Herpes Virus Type 8Stock	ZMC	NATHHV8-ST	No detectado
55	<i>Neisseria lactamica</i> Hollis et al.	ATCC	23972	No detectado
56	<i>Neisseria mucosa</i>	KCCM	11703	No detectado
57	<i>Neisseria sicca</i>	ATCC	29259	No detectado
58	<i>Pantoea agglomerans</i>	KCTC	2564	No detectado
59	<i>Propionibacterium acnes</i> subsp. <i>acnes</i>	KCTC	3314	No detectado
60	<i>Proteus mirabilis</i>	KCTC	2510	No detectado
61	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KCTC	2004	No detectado
62	<i>Salmonella bongori</i>	ATCC	43975	No detectado
63	<i>Serratia marcescens</i>	KCTC	2801	No detectado
64	<i>Shigella boydii</i>	KCTC	22528	No detectado
65	<i>Shigella flexneri</i>	KCTC	22192	No detectado
66	St. Louis Encephalitis Virus	ATCC	VR-3236SD	No detectado
67	<i>Staphylococcus aureus</i>	KCTC	3881	No detectado
68	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	KCCM	41466	No detectado
69	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KCCM	35494	No detectado
70	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	KCTC	3341	No detectado
71	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	KCCM	42266	No detectado
72	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	BEI	HM-141	No detectado
73	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	KCTC	3345	No detectado
74	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	KCTC	1773	No detectado
75	<i>Streptococcus anginosus</i>	KCTC	3983	No detectado
76	<i>Streptococcus australis</i>	KCTC	13913	No detectado
77	<i>Streptococcus bovis</i>	KCCM	40409	No detectado
78	<i>Streptococcus constellatus</i>	ATCC	27513	No detectado
79	<i>Streptococcus cristatus</i>	ATCC	151100	No detectado
80	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	KCTC	3098	No detectado
81	<i>Streptococcus entericus</i>	KCTC	13925	No detectado

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm.	Resultado†
82	<i>Streptococcus gordonii</i>	KCTC	3286	No detectado
83	<i>Streptococcus hyointestinalis</i>	KCTC	3660	No detectado
84	<i>Streptococcus iniae</i>	KCTC	3657	No detectado
85	<i>Streptococcus intermedius</i>	KCTC	3268	No detectado
86	<i>Streptococcus lutetiensis</i>	KCTC	3877	No detectado
87	<i>Streptococcus macacae</i>	KCTC	3659	No detectado
88	<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC	15914	No detectado
89	<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC	6249	No detectado
90	<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC	49456D-5	No detectado
91	<i>Streptococcus mutans</i>	KCTC	3065	No detectado
92	<i>Streptococcus oralis</i>	KCTC	13048	No detectado
93	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	KCTC	13046	No detectado
94	<i>Streptococcus parauberis</i>	KCTC	3651	No detectado
95	<i>Streptococcus pleomorphus</i>	KCTC	3656	No detectado
96	<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	KCTC	5764	No detectado
97	<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	KCOM	1679	No detectado
98	<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	KCOM	1699	No detectado
99	<i>Streptococcus pyogenes</i>	KCCM	11873	No detectado
100	<i>Streptococcus rattii</i>	KCTC	3655	No detectado
101	<i>Streptococcus salivarius</i>	KCCM	11926	No detectado
102	<i>Streptococcus sanguinis</i>	KCTC	3284	No detectado
103	<i>Streptococcus sobrinus</i>	KCTC	3308	No detectado
104	<i>Streptococcus sobrinus</i>	KCTC	3308	No detectado
105	<i>Streptococcus suis</i>	KCTC	3557	No detectado
106	<i>Streptococcus vestibularis</i>	KCTC	3650	No detectado
107	West Nile Virus	ATCC	VR-3198SD	No detectado

† Los tests especificados se repitieron 3 veces.

※ ATCC: American Type Culture Collection
ZMC: ZeptoMetrix Corporation

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

QCMD: Qnostics Corporation
KCTC: Korean Collection for Type Culture
BEI: BEI resources Corporation
KBPV: Korea Bank for Pathogenic Viruses
KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
KCOM: Korean Collection for Oral Microbiology

2. Sensibilidad

La sensibilidad se define como la concentración más baja de organismo que se puede detectar consistentemente ($\geq 95\%$ de los resultados positivos entre todas las muestras analizadas). Se confirmó cuando se obtuvieron los resultados correctos de organismo / ensayo de al menos 32 de las 32 muestras ($32/32 = 100\%$) evaluadas.

La sensibilidad de Allplex™ Meningitis-V1 Assay se determinó utilizando muestras adulteradas de DNA plasmídico diana (de 10^5 a 10^0 copias/reacción). El límite de detección para el Allplex™ Meningitis-V1 Assay fue de 100 copias/reacción.

3. Reproducibilidad

Se preparó el panel de reproducibilidad de 21 analitos simulados que incluía muestras muy negativas (0,1X LoD), poco positivas (1X LoD) y ligeramente positivas (3X LoD). En cada centro de pruebas se analizó el panel durante cinco días, dos operadores diferentes llevaron a cabo dos ciclos cada día y triplicaron el ciclo de cada panel a partir de una extracción. Se analizó con un único lote de Allplex™ Meningitis-V1 Assay en tres centros diferentes y con tres lotes en un centro interno. Se observaron tasas positivas de cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,00% de muestras ligeramente positivas, $\geq 97,33\%$ de muestras poco positivas y $\geq 29,33\%$ de muestras muy negativas.

La reproducibilidad del Allplex™ Meningitis-V1 Assay se evaluó entre sitios, lotes de productos y experimentadores. Los valores de CV cumplieron criterios de menos del 10% ($<10\%$).

Los resultados se cumplieron con los criterios establecidos anteriormente, confirmando así los rendimientos reproducibles del Allplex™ Meningitis-V1 Assay.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se llevó a cabo usando sustancias interferentes compuestas por 9 sustancias para confirmar el rendimiento de Allplex™ Meningitis-V1 Assay en la presencia de potenciales sustancias interferentes. El resultado no se vio afectado al añadir las sustancias: ni detección no específica ni inhibición en la amplificación objetiva. Teniendo en cuenta los resultados, las 9 sustancias interferentes no afectaron los resultados de Allplex™ Meningitis-V1 Assay.

Núm	Sustancias interferentes	Concentración
1	Albúmina (BSA)	60 mg/mL
2	Glucosa	10 mg/mL
3	Hemoglobina humana	2 mg/mL
4	Lactato (Sodio-L-Lactato)	6,6 mmol/L
5	Potasio (KCl)	7 mmol/L
6	Cloruro (NaCl)	120 mmol/L
7	Magnesio (MgCl ₂)	15 mmol/L
8	Ethanol	86,8 mmol/L
9	Calcio (CaCl ₂)	5 mmol/L

5. Estudio clínico

Se analizaron un total de 77 muestras clínicas con el ensayo Allplex™ Meningitis-V1 Assay y con productos de FTD (FTD Neuro 9 y FTD viral meningitis).

Con el ensayo Allplex™ Meningitis-V1 Assay se obtuvo una sensibilidad del 100% para todos los patógenos, excepto el Human herpesvirus 6. Se obtuvo 100% de especificidad para Cytomegalovirus, Varicellar-zoster virus, Epstein-Barr virus, Herpes simplex virus 2, Human herpesvirus 7, así como el 98,7% Herpes simplex virus 1 y Human herpesvirus 6 con Allplex™ Meningitis-V1 Assay.

A continuación se presenta un resumen de los resultados.

Analito	Sensibilidad (comparado con los productos de FTD)			Especificidad (comparado con los productos de FTD)		
	TP/ (TP+FN)	% ^{a)}	95% CI ^{c)}	TN/ (TN+FP)	% ^{b)}	95% CI ^{c)}
Cytomegalovirus (CMV)	2/2	100	22,7~100,0	75/75	100	98,0~100,0
Herpes simplex virus 1 (HSV1)	1/1	100	5,6~100,0	75 ^{d)} /76	98,7	97,4~98,7

Human herpesvirus 6 (HHV6)	0/0	-	-	76 ^d /77	98,7	98,7~98,7
Varicellar-zoster virus (VZV)	6/6	100	61,1~100,0	71/71	100	96,8~100,0
Epstein-Barr virus (EBV)	2/2	100	22,7~100,0	75/75	100	97,9~100,0
Herpes simplex virus 2 (HSV2)	2/2	100	22,7~100,0	75/75	100	98,0~100,0
Human herpesvirus 7 (HHV7)	1/1	100	5,7~100,0	76/76	100	98,8~100,0

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

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

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

d) Las muestras discrepantes (1 de 76 para el Herpes simplex virus 1, 1 de 77 para el Human herpesvirus 6) se confirmaron como verdaderos positivos por secuenciación.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

REFERENCIAS



















1. C. E. Corless, M. Guiver, et al. [Simultaneous Detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococcus pneumoniae* in Suspected Cases of Meningitis and Septicemia Using Real-time PCR.] J Clin Microbiol. (2001) 39(4):1553-1558
2. De Crom, S. C. M. et al. [Enterovirus and Parechovirus Infection in Children: A Brief Overview.] European Journal of Pediatrics 175 (2016): 1023–1029.
3. Ginsberg L, [Difficult and recurrent meningitis] Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 2004.
4. Kim, K. S. [Pathogenesis of bacterial meningitis: from bacteraemia to neuronal injury], Nat. Rev. Neurosci. 4:376-385. 2003.
5. K. Y. Lee, D. Burgner, et al. [The Changing Epidemiology of Pediatric Aseptic Meningitis in Daejeon, Korea from 1987 to 2003.] BMC Infect Dis. (2005) 5:97
6. Logan, Sarah A E, and Eithne MacMahon. [Viral Meningitis] BMJtis] BMJJs] BMJPediatric Aseptic Meningitis in Dae
7. Laboratory Methodes for the Diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitides*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenza*, WHO MANUAL, 2nd edition, 2011
8. M. Ceyhan, I. Yildirim, et al. [A Prospective Study of Etiology of Childhood Acute Bacterial Meningitis, Turkey.] Emerg Infect Dis. (2008) 14(7):1089-1096
9. M. K. Boving, L. N. Pedersen, et al. [Eight-plex PCR and Liquid Array Detection of Bacterial and Viral Pathogens in Cerebrospinal Fluid from Patients with Suspected Meningitis.] J Clin Microbiol. (2009) 47(4):908-913
10. M. N. Theodoridou, V. A. Vasilopiulou et al. [Meningitis Registry of Hospitalized Cases in Children: Cpidemiological Patterns of Acute Bacterial Meningitis Throughout a 32-year Period.] BMC Infect Dis. 7:101-112, 2007
11. Okumura, A, and T Ichikawa. [Aseptic Meningitis Caused by Human Parvovirus B19], Archives of Disease in Childhood 68.6 (1993): 784J 089
12. Pearson N et al,. [Antibiotic prophylaxis for bacterial meningitis: overuse and uncertain efficacy], J Public Health Med. 17(4):455-8. 1995 Dec
13. P. K. Coyle. [Overview of Acute and Chronic Meningitis.] Neurol Clin. (1999) 17(4):692-709
14. S. Poppert, A. Essig, et al. [Rapid Diagnosis of Bacterial Meningitis by Real-time PCR and Fluorescence In Situ Hybridization.] J Clin Microbiol, 43(7):3390-3397, 2005
15. Z. B. Zheng, Y. D. Wu, et al. [DNA Microarray Technology for Simultaneous Detection and Species Identification of Seven Human Herpes Viruses] J Med Virol. 80(6):1042-1050, 2008

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SÍMBOLOS

Clave sobre los símbolos que se han usado en el manual y las etiquetas

Símbolo	Explicación
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Número de catálogo
	Utilizar por fecha
	Límite superior de temperatura
	Mezcla de oligonucleotidos para amplificación y detección
	Mezcla de enzimas
	PCR Master Mix o Detection Mix
	Tampón
	RNase-free Water
	Control Positivo (PC)
	Control Interno (IC)
	Consulte las instrucciones de uso
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Precaución
	Contiene suficiente para <n> test

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN DE PEDIDO

Núm. Cat.	Producto	Tamaño
Serie Allplex™		
MG9700Y	Allplex™ Meningitis-V1 Assay	50 rxns
MG9700X	Allplex™ Meningitis-V1 Assay	100 rxns*
MG10209Z	Allplex™ Meningitis-V1 Assay	25 rxns*
MG9500Y	Allplex™ Meningitis-V2 Assay	50 rxns
MG9500X	Allplex™ Meningitis-V2 Assay	100 rxns*
MG10210Z	Allplex™ Meningitis-V2 Assay	25 rxns*
MG9600Y	Allplex™ Meningitis-B Assay	50 rxns
MG9600X	Allplex™ Meningitis-B Assay	100 rxns*
MG10211Z	Allplex™ Meningitis-B Assay	25 rxns*

* Para usar solo con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet.

Productos accesorios

SG1701	Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	50 preps
--------	----------------------------------------------	----------

Sistemas de extracción automatizada

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ROTULOS "Allplex™ Meningitis-V1 Assay" (Ref.: MG9700X para 100 reacciones)

Rotulo Externo

QR Code

Allplex™ CE 2797 IVD

Meningitis-V1 Assay

(01) 08809240101018 (11) 180201
(17) 190131 (10) MG6718B01 (21) 0076

REF MG9700X Σ 100

LOT MG6718B01

Hourglass icon: 2019-01-31
Book icon: 2018-02-01
Graph icon
Thermometer icon: -20°C

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

QR Code

Allplex™
Meningitis-V1 Assay
(only for NIMBUS, STARlet)

Information of components included in kit
1 vial of MG-V1 MOM
1 vial of EM4
1 vial of EM4 Buffer
1 vial of MG-V1 PC
1 vial of MG-V1 IC
1 vial of RNase-free Water



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

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

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-626-169

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Rótulos Internos

Allplex™

Meningitis-V1 Assay

MG-V1 MOM

PRIMER

YYY-MM-DD 500 µL  


LOT MG9700X MOM-XXXX

Seegene Inc.

EC REP MT Promedt IVD

 Seegene

EM4

YYY-MM-DD 500 µL 


LOT ENA-XXXX **ENZYME**

Seegene Inc.



 Seegene

EM4 Buffer

YYY-MM-DD 500 µL 

LOT BNA-XXXX **BUFFER**

Seegene Inc.



 Seegene


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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

Meningitis-V1 Assay

MG-V1 PC **CONTROL** **+**

☒ YYYY-MM-DD 50 µL   20°C

LOT MG9700X PC-XXXX

 Seegene Inc.



EC REP MT Promedt **IVD**

 **Seegene**

Allplex™

Meningitis-V1 Assay

MG-V1 IC **CONTROL** **IC**

☒ YYYY-MM-DD 1,000µL   20°C

LOT MG9700X IC-XXXX

 Seegene Inc.

EC REP MT Promedt **IVD**

 **Seegene**

RNase-free Water

WATER

☒ YYYY-MM-DD 1 mL  20°C

LOT RWA-XXXX

 Seegene Inc.



 **Seegene**

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ROTULOS "Allplex™ Meningitis-V1 Assay" (Ref.: MG9700Y para 50 reacciones))

Rotulo Externo

QR Code

Allplex™ CE 2797 IVD

Meningitis-V1 Assay

(01) 08809240101001 (11) 180201
(17) 190131 (10) MG6618B01 (21) 0076

REF MG9700Y Σ 50

LOT MG6618B01

Hourglass icon | Book icon | Graph icon | Thermometer icon -20°C

2019-01-31 2018-02-01

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

QR Code

Allplex™
Meningitis-V1 Assay

Information of components included in kit

- 1 vial of MG-V1 MOM
- 1 vial of EM4
- 1 vial of EM4 Buffer
- 1 vial of MG-V1 PC
- 1 vial of MG-V1 IC
- 1 vial of RNase-free Water



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

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

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-626-169

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

Allplex™


Meningitis-V1 Assay

MG-V1 MOM

PRIMER

∑ YYYY-MM-DD 250 µL  

LOT MG9700Y MOM-XXXX

 Seegene Inc.

  MT Promedt 

 Seegene

EM4

∑ YYYY-MM-DD 250 µL 


LOT ENB-XXXX **ENZYME**

 Seegene Inc.



 Seegene

EM4 Buffer

∑ YYYY-MM-DD 250 µL 

LOT BNB-XXXX **BUFFER**

 Seegene Inc.



 Seegene

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



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

Meningitis-V1 Assay

MG-V1 PC

CONTROL +

YYYY-MM-DD 25 µL   20°C

LOT MG9700Y PC-XXXX

Seegene Inc.   MT Promedix 



 Seegene

Allplex™

Meningitis-V1 Assay

MG-V1 IC

CONTROL IC

YYYY-MM-DD 500 µL   20°C

LOT MG9700Y IC-XXXX

Seegene Inc.   MT Promedix 

 Seegene

RNase-free Water

WATER

YYYY-MM-DD 1 mL  20°C

LOT RW-XXXX

Seegene Inc. 

 Seegene

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ROTULOS "Allplex™ Meningitis-V1 Assay" (Ref.: MG10209Z para 25 reacciones)

Rotulo Externo

Allplex™ CE 2797 IVD

Meningitis-V1 Assay

REF MG10209Z Σ 25

LOT MG7219A02

2020-01-01 2019-01-02

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

Allplex™
Meningitis-V1 Assay
(only for NIMBUS, STARlet)

Information of components included in kit

- 1 vial of MG-V1 MOM
- 1 vial of EM4
- 1 vial of EM4 Buffer
- 1 vial of MG-V1 PC
- 1 vial of MG-V1 IC
- 1 vial of RNase-free Water



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

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

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-626-169

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



Rótulos Internos

Allplex™

Meningitis-V1 Assay

MG-V1 MOM

PRIMER

YYYY-MM-DD 125 µL  


MG10209Z MOM-XXXX

Seegene Inc.

CEP MT Promedix 

 Seegene

EM4

YYYY-MM-DD 125 µL 


ENF-XXXX **ENZYME**

Seegene Inc.



 Seegene

EM4 Buffer

YYYY-MM-DD 125 µL 

BNF-XXXX **BUFFER**

Seegene Inc.



 Seegene

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

Meningitis-V1 Assay

MG-V1 PC **CONTROL** **+**

📅 YYYY-MM-DD 50 µl 📖 🌡️ 20°C

📦 MG10209Z PC-XXXX

🏢 Seegene Inc. 📦 MT Promedct 📦



Allplex™

Meningitis-V1 Assay

MG-V1 IC **CONTROL** **IC**

📅 YYYY-MM-DD 250 µL 📖 🌡️ 20°C

📦 MG10209Z IC-XXXX

🏢 Seegene Inc. 📦 MT Promedct 📦



RNase-free Water **WATER**

📅 YYYY-MM-DD 1 mL 🌡️ 20°C

📦 RWA-XXXX

🏢 Seegene Inc. 📖



Firm. 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: ROTULOS E INSTRUCCIONES DE USO BIOSYSTEMS S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 109 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.05.12 11:13:47 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.05.12 11:13:49 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005450-22-4

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

Expediente N° 1-0047-3110-005450-22-4

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 Comercial: Allplex™ Meningitis-V1 Assay

Indicación/es de uso:

Allplex™ Meningitis-V1 Assay es una prueba cualitativa in vitro para la detección única o múltiple del Herpes simplex virus 1 (HSV1), Herpes simplex virus 2 (HSV2), Varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human herpes virus 6 (HHV6), y Human herpes virus 7 (HHV7) a partir de muestras del líquido cerebroespinal (CSF).

Forma de presentación: Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG9700X para 100 reacciones)

- MG-V1 MOM (1 x 500 µl) Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección.

- EM4 (1 x 500 μ l) Polimerasa de DNA; Uracil-DNA glicosilasa (UDG); Tampón que contiene dNTPs.
- EM4 Buffer (1 x 500 μ l) Tampón para PCR en tiempo real: Tampón que contiene BSA y glicerol.
- MG-V1 PC (1 x 50 μ l) Control Positivo (PC): Mezcla de patógenos y clones IC.
- MG-V1 IC (1 x 1000 μ l) Control Interno (IC) exógeno.
- RNase-free Water (1 x 1000 μ l) Calidad ultrapura, grado PCR.

Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG9700Y para 50 reacciones)

- MG-V1 MOM (1 x 250 μ l) Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM4 (1 x 250 μ l) Polimerasa de DNA; Uracil-DNA glicosilasa (UDG); Tampón que contiene dNTPs.
- EM4 Buffer (1 x 250 μ l) Tampón para PCR en tiempo real: Tampón que contiene BSA y glicerol.
- MG-V1 PC (1 x 25 μ l) Control Positivo (PC): Mezcla de patógenos y clones IC.
- MG-V1 IC (1 x 500 μ l) Control Interno (IC) exógeno.
- RNase-free Water (1 x 1000 μ l) Calidad ultrapura, grado PCR.

Allplex™ Meningitis-V1 Assay (Ref.: MG10209Z para 25 reacciones)

- MG-V1 MOM (1 x 125 μ l) Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección.
- EM4 (1 x 125 μ l) Polimerasa de DNA; Uracil-DNA glicosilasa (UDG); Tampón que contiene dNTPs.
- EM4 Buffer (1 x 125 μ l) Tampón para PCR en tiempo real: Tampón que contiene BSA y glicerol.
- MG-V1 PC (1 x 50 μ l) Control Positivo (PC): Mezcla de patógenos y clones IC.
- MG-V1 IC (1 x 250 μ l) Control Interno (IC) exógeno.
- RNase-free Water (1 x 1000 μ l) Calidad ultrapura, grado PCR

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 626-169 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-005450-22-4

N° Identificador Trámite: 41292

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica

Date: 2023.06.14 22:47:18 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica

Date: 2023.06.14 22:47:18 -03:00