



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Disposición

Número:

Referencia: EX -2021-06044869-APN-DGA#ANMAT

VISTO el N° EX -2021-06044869-APN-DGA#ANMAT del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma TECNOLAB S.A. solicita autorización para la venta del Producto médico para diagnóstico *in vitro* denominado: **GenoType MTBDRs1 VER 2.0.**

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 en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos Médicos para Diagnóstico *in vitro* que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia y corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico para diagnóstico *in vitro* objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto 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 *in vitro* denominado **GenoType MTBDRs1 VER 2.0**, de acuerdo con lo solicitado por la firma TECNOLAB S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulos y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-13618159-APN-INPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM-1252-163”, 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. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica a 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 COMERCIAL: GenoType MTBDRs1 VER 2.0

INDICACION DE USO: El kit GenoType MTBDRs/VER 2.0 es un ensayo cualitativo *in vitro*, para la identificación genética del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su resistencia a fluoroquinolonas (FLQ; p.ej. ofloxacino y moxifloxacino) y aminoglicósidos/péptidos cíclicos (AG/CP; antibióticos inyectables como kanamicina, amikacina, capreomicina y viomicina) a partir de muestras de esputo baciloscopía negativa o positiva, y muestras de cultivo. Las siguientes especies están incluidas en la tuberculosis causada por el complejo *M. tubercu/osis*. *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis* subsp. *bovis*, *M. bovis* subsp. *caprae*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. canettii* y *M. pinnipedii*. La detección de la resistencia a fluoroquinolonas (FLQ) está activada por la detección de las principales mutaciones asociadas a resistencia de los genes *gyrA* y *gyrB* (que codifica la subunidad A y la subunidad B de la DNA girasa, respectivamente). Para la detección de resistencia a aminoglicósidos/péptidos cíclicos se examina el gen 16S rRNA (*rrs*), para la detección de resistencia de bajo nivel a la kanamicina, se examina la región promotora del gen *eis* (que codifica la acetiltransferasa *Eis*). El ensayo está indicado como soporte al diagnóstico y previsto para uso en laboratorios médicos.

FORMA DE PRESENTACIÓN: El producto es provisto en dos kits separados debido a su diferente temperatura de conservación. Existe presentación para 12 determinaciones (código del producto: 317A) y para 96 determinaciones (código del producto: 31796A). En la siguiente tabla se detalla la composición de cada presentación:

Código n° 317A Test 12

Código n° 31796A Test 96

Componente del Kit 1 de 2 (almacene entre 2°C y 8° C):

Tiras de membranas recubiertas con sondas específicas

(MTBDRs1 VER 2.0 STRIPS) 12 2x 48

Solución de Desnaturalización (DEN)

contiene <2% NaOH, colorante 240 pl 2x 960 pl

Tampón de Hibridación (HYB)

contiene surfactante aniónico al < 10%, colorante 12 ml 96 ml

Solución de Lavado Astringente (STR)

contiene compuesto cuaternario de amonio al >25%,

surfactante aniónico al < 1%, colorante 12 ml 96 ml

Solución de Aclarado (RIN) contiene tampón, < 1% NaCl, surfactante no iónico al < 1% 36 ml 3x 96 ml

Conjugado Concentrado (CON-C) contiene fosfatasa alcalina conjugada con streptavidina, colorante 120 960 vi

Tampón del Conjugado (CON-D) contiene tampón, reactivo de bloqueo al 1%, < 1% NaCl 12 ml 96 ml

Sustrato Concentrado (SUB-C) contiene dimetilsulfóxido, < 10% 4-nitroazul de tetrazolio (NBT).

< 10% 5-bromo-4-cloro-3-indolilo fosfato 120 pl 960 HI

Tampón del Sustrato (SUB-D) contiene tampón, < 1% MgCl₂, < 1% NaCl 12 ml 96 ml

Bandeja, hoja de evaluación 1 de cada 4 de cada

Instrucciones de uso, plantilla 1 de cada 1 de cada

Etiqueta de los lotes 3 3

Componente del Kit 2 de 2 (almacene entre -20 °C y -18°C)

Mezcla de Amplificación A (AM-A GT MTBDRs1 VER 2.0) contiene tampón, nucleótidos, Taq polimerasa 120 4x 240 pl

Mezcla de Amplificación B (AM-B GT MTBDRs1 VER 2.0)

contiene sales, primers específicos, colorante 420 4x 840 pl

PERÍODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE PRESENTACIÓN: 18 meses. Componente del Kit 1 de 2

(almacene entre 2°C y 8° C) y Componente del Kit 2 de 2 (almacene entre -20 °C y -18°C)

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: Hain Lifescience GmbH, Hardwiesenstr 1. 72147 Nehren. Alemania.

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: Venta exclusiva a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

N° EX-2021-06044869-APN-DGA#ANMAT


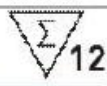
AM

Digitally signed by GARAY Valeria Teresa
Date: 2022.03.22 18:19:54 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.03.22 18:20:03 -03:00

PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS - GenoType MTBDRsl VER 2.0

12 REACCIONES





GenoType MTBDRsl VER 2.0

for identification of the *M. tuberculosis* complex and its resistance to fluoroquinolones and aminoglycosides/cyclic peptides from sputum specimens or cultivated samples

00781/1


Store Kit Component 2
(included in box)
immediately
upon receipt at -20°C




REF

 317A

1/2


2°C  8°C

2/2


-20°C  -18°C

GenoType MTBDRsl VER 2.0


1/2

2°C  8°C

2/2


-20°C  -18°C



Store Kit Component 2
(included in box)
immediately
upon receipt at -20°C


 Hain Lifescience GmbH | Hardwiesenstr. 1 | 72147 Nehren | Germany
www.hain-lifescience.de | E-Mail: info@hain-lifescience.de | Tel.: +49 (0) 74 73- 94 51- 0

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

Director Técnico
Firma y Sello

GenoType MTBDRsl VER 2.0 **IVD** 

LOT AAWxxxxxx  YYYY-MM-DD  YYYY-MM-DD

1/2 12 STRIPS membrane sirips, Membranstreifen, bandelettes, strisce di membrana, tiras de membranas, tiras de membrana, paski membranowe

240 µl DEN denaturation solution, Denaturierungsreagenz, solution de dénaturation, soluzione di denaturazione, solución de desnaturalización, solução de desnaturação, roztwór denaturacyjny

12 ml HYB hybridization buffer, Hybridisierungspuffer, solution d'hybridation, tampone di ibridazione, tampón de hibridación, tampão de hibridação, bufor hybridyzacyjny

12 ml STR stringent wash solution, Stringent-Waschlösung, solution de lavage stringent, soluzione di lavaggio stringente, solución de lavado astringente, solução de lavagem adstringente, roztwór płuczający stringent

36 ml RIN rinse solution, Rinse-Lösung, solution de rinçage, soluzione di risciacquo, solución de aclarado, solução rinse, roztwór płuczający

120 µl CON-C conjugate concentrate, Konjugat-Konzentrat, conjugué concentré, coniugato concentrato, conjugado concentrado, stężony koniugat

12 ml CON-D conjugate buffer, Konjugat-Puffer, tampon conjugué, tampone di diluizione del coniugato, tampón del conjugado, tampão do conjugado, bufor koniugatu

120 µl SUB-C substrate concentrate, Substrat-Konzentrat, substrat concentré, substrato concentrato, susirato concentrado, substrato concentrado, stężony substrat

12 ml SUB-D substrate buifer, Substrat-Puffer, tampon substrat, tampone di diluizione del substrato, tampón del sustrato, tampão do substrato, bufor substratu

2/2 120 µl AM-A amplification mix A, Amplifikations-Mix A, mélange d'amplification A, mix di amplificazione A, mezcla de amplificación A, mistura de amplificação A, mieszanina do amplifikacji A

420 µl AM-B amplification mix B, Amplifikations-Mix B, mélange d'amplification B, mix di amplificazione B, mezcla de amplificación B, mistura de amplificação B, mieszanina do amplifikacji B

001A/1


DEN: Warning/Achtung/Attention/Attenzione/Atención/Atenção/Uwaga
contains/enthält/contient/contiene/contém/zawiera: <2% NaOH
H315-319, P280-305+351+338-313

HYB, SUB-C: EUH210

002B/3
Hain Lifescience GmbH | Hardwiesenstr. 1 | 72147 Nehren | Germany | Tel.: +49 (0) 74 73- 94 51- 0


MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

Director Técnico
Firma y Sello



IFU-317A-04

Valid edition of the instructions for use (IFU): see above
 If you do not have this edition, you can obtain it from our website or by calling (see below).

Geltende Ausgabe der Arbeitsanleitung (instructions for use, IFU): siehe oben
 Wenn Ihnen diese Ausgabe nicht vorliegt, können Sie sie über unsere Website
 oder durch einen Anruf beziehen (siehe unten).

Dernière version de la notice d'utilisation (instructions for use, IFU) : voir ci-dessus
 Si vous ne disposez pas de cette version, vous pouvez la télécharger sur notre site
 ou nous contacter (voir ci-dessous).


Edizione valida delle istruzioni per l'uso (instructions for use, IFU): vedi sopra
 Se non possiedi questa edizione, puoi ottenerla dal nostro sito web oppure
 telefonando (vedi sotto).


Edición válida de las instrucciones de uso (instructions for use, IFU): ver arriba
 Si no posee esta edición, puede obtenerla en nuestra página web o llamando (ver abajo).

Edição válida das instruções de uso (instructions for use, IFU): ver acima
 Se você não tem esta edição, pode obtê-la a partir do nosso site ou telefonar (ver abaixo).


Obowiązująca wersja ulotki (instructions for use, IFU): patrz powyżej
 W razie nieposiadania tej wersji można uzyskać ją z naszej strony internetowej lub
 po kontakcie telefonicznym (patrz poniżej).

001A/2

 www.hain-lifescience.de/ifu.html | +49 (0) 74 73- 94 51- 0



new/neue/nouvelle/nuovo/nuevo/novo IFU



IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964 - c1427cco.
 C.A.B.A. Argentina. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACIÓN: Hain Lifescience GmbH.
 Hardwiesenstr 1. 72147 Nehren. Alemania.

**USO EXCLUSIVO PROFESIONAL – VENTA A
 LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS**

APROBADO POR A.N.M.A.T.

CON PM: 1252-163


 MARISOL MASINO
 BIOQUÍMICA - M.N. 9483
 DT - TECNOLAB S.A.

Director Técnico
 Firma y Sello

Kit N° 2 de 2

CE **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 

 **LOT** AAWxxxxxx
  **YYYY-MM**
 **-18°C**
 **IVD**
 **Σ 12**

002A/1

2/2	<p>120 µl AM-A amplification mix A, Amplifikations-Mix A, mélange d'amplification A, mix di amplificazione A, mezcla de amplificación A, mistura de amplificação A, mieszanina do amplifikacji A</p> <p>420 µl AM-B amplification mix B, Amplifikations-Mix B, mélange d'amplification B, mix di amplificazione B, mezcla de amplificación B, mistura de amplificação B, mieszanina do amplifikacji B</p>
------------	---

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964 - c1427cco.
C.A.B.A. Argentina. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACIÓN: Hain Lifescience GmbH.
Hardwiesenstr 1. 72147 Nehren. Alemania.

**USO EXCLUSIVO PROFESIONAL – VENTA A
LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS**

APROBADO POR A.N.M.A.T.

CON PM: 1252-163


MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.


Director Técnico


Firma y Sello

96 REACCIONES

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

Director Técnico
Firma y Sello





GenoType MTBDRsl

VER 2.0

for identification of the *M. tuberculosis* complex and its resistance to fluoroquinolones and aminoglycosides/cyclic peptides from sputum specimens or cultivated samples

0078/1


Store Kit Component 2
(included in box)
immediately
upon receipt at -20°C

CE

REF


31796A

1/2



2°C - 8°C

2/2




-20°C - -18°C

GenoType MTBDRsl


VER 2.0

1/2




2°C - 8°C

2/2



-20°C - -18°C

Store Kit Component 2
(included in box)
immediately
upon receipt at -20°C


 Hain Lifescience GmbH | Hardwiesenstr. 1 | 72147 Nehren | Germany
www.hain-lifescience.de | E-Mail: info@hain-lifescience.de | Tel.: +49 (0) 74 73- 94 51- 0

GenoType MTBDRsl VER 2.0		IVD	HAIN LIFESCIENCE
LOT AAXxxxxxx	YYYY-MM-DD	YYYY-MM-DD	
1/2	96	STRIPS	membrana strips, Membranstreifen, bandelettes, strisce di membrana, tiras de membranas, tiras de membrana, paski membranowe
	1.92 ml	DEN	denaturation solution, Denaturierungsreagent, solution de dénaturation, soluzione di denaturazione, solució de desnaturalizació, solució de desnaturalaçó, roztwór denaturacyjny
	96 ml	HYB	hybridization buffer, Hybridisierungspuffer, solution d'hybridation, tampone di ibridazione, tampón de hibridación, tampão de hibridação, bufor hybridyzacyjny
	96 ml	STR	stringent wash solution, Stringent-Waschlösung, solution de lavage stringent, soluzione di lavaggio stringente, solució de lavado asstringent, solució de lavagem asstringente, roztwór płuczacy stringent
	288 ml	RIN	rinse solution, Rinse-Lösung, solution de rinçage, soluzione di risciacquo, solució de aclarado, solució rinse, roztwór płuczacy
	960 µl	CON-C	conjugate concentrate, Konjugat-Konzentrat, conjugué concentré, conjugato concentrato, conjugado concentrado, stężony koniugat
	96 ml	CON-D	conjugate buffer, Konjugat-Puffer, tampón conjugué, tampone di diluizione del conjugato, tampón del conjugado, tampão do conjugado, bufor koniugatu
	960 µl	SUB-C	substrate concentrate, Substrat-Konzentrat, substrat concentré, substrato concentrato, substrato concentrado, stężony substrat
	96 ml	SUB-D	substrate buffer, Substrat-Puffer, tampón substrat, tampone di diluizione del substrato, tampón del substrato, tampão do substrato, bufor substratu
2/2	960 µl	AM-A	amplification mix A, Amplifikations-Mix A, mélange d'amplification A, mix di amplificazione A, mezcla de amplificación A, mistura de amplificação A, meszanina de amplifikacji A
	3.36 ml	AM-B	amplification mix B, Amplifikations-Mix B, mélange d'amplification B, mix di amplificazione B, mezcla de amplificación B, mistura de amplificação B, meszanina de amplifikacji B

001A/1




DEN: Warning/Achtung/Attention/Attenzione/Atención/Atenção/Uwaga
contains/enthält/contient/contiene/contém/zawiera: <2% NaOH
H315-319, P280-305+351+338-313

HYB, SUB-C: EUH210

Hain Lifescience GmbH | Hardwiesenstr. 1 | 72147 Nehren | Germany | Tel.: +49 (0) 74 73- 94 51- 0

002B/3

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

Director Técnico
Firma y Sello

IFU-317A-04



Valid edition of the instructions for use (IFU): see above
If you do not have this edition, you can obtain it from our website or by calling (see below).

Geltende Ausgabe der Arbeitsanleitung (instructions for use, IFU): siehe oben
Wenn Ihnen diese Ausgabe nicht vorliegt, können Sie sie über unsere Website oder durch einen Anruf beziehen (siehe unten).

Dernière version de la notice d'utilisation (instructions for use, IFU) : voir ci-dessus
Si vous ne disposez pas de cette version, vous pouvez la télécharger sur notre site ou nous contacter (voir ci-dessous).

001A/2

Edizione valida delle istruzioni per l'uso (instructions for use, IFU): vedi sopra
Se non possiedi questa edizione, puoi ottenerla dal nostro sito web oppure telefonando (vedi sotto).

Edición válida de las instrucciones de uso (instructions for use, IFU): ver arriba
Si no posee esta edición, puede obtenerla en nuestra página web o llamando (ver abajo).

Edição válida das instruções de uso (instructions for use, IFU): ver acima
Se você não tem esta edição, pode obtê-la a partir do nosso site ou telefonar (ver abaixo).

Obowiązująca wersja ulotki (instructions for use, IFU): patrz powyżej
W razie nieposiadania tej wersji można uzyskać ją z naszej strony internetowej lub po kontakcie telefonicznym (patrz poniżej).



www.hain-lifescience.de/ifu.html | +49 (0) 74 73- 94 51- 0



new/neue/nouvelle/nuovo/nuevo/novo IFU



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

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACIÓN: Hain Lifescience GmbH.
Hardwiesenstr 1. 72147 Nehren. Alemania.

**USO EXCLUSIVO PROFESIONAL – VENTA A
LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS**

APROBADO POR A.N.M.A.T.

CON PM: 1252-163


MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA M.N. 9483
DT - TECNO LAB S.A.

Director Técnico
Firma y Sello

Kit N° 2 de 2

 GenoType MTBDRsl VER 2.0			
LOT AAXxxxxxx	YY-YY-MM		IVD
			
2/2			
0022A/1	960 µl AM-A	amplification mix A, Amplifikations-Mix A, mélange d'amplification A, mix di amplificazione A, mezcla de amplificación A, mistura de amplificação A, mieszanina do amplifikacji A	
	3.36 ml AM-B	amplification mix B, Amplifikations-Mix B, mélange d'amplification B, mix di amplificazione B, mezcla de amplificación B, mistura de amplificação B, mieszanina do amplifikacji B	

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964 - c1427cco.
C.A.B.A. Argentina. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACIÓN: Hain Lifescience GmbH. Hardwiesenstr
1. 72147 Nehren. Alemania.

**USO EXCLUSIVO PROFESIONAL – VENTA A LABORATORIOS
DE ANÁLISIS CLÍNICOS**

APROBADO POR A.N.M.A.T.

CON PM: 1252-163



MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

Director Técnico
Firma y Sello

PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS - GenoType MTBDRsl VER 2.0

Etiquetas de los viales de mezcla de amplificación (kit N° 2)

12 reacciones

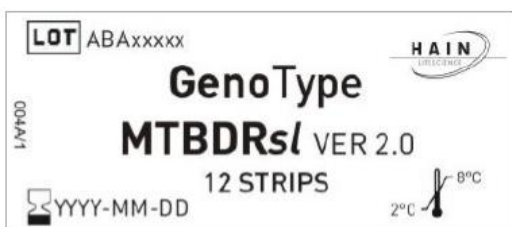


96 reacciones



Etiquetas de los tubos con las tiras de membrana (kit N° 1)

12 reacciones



96 reacciones



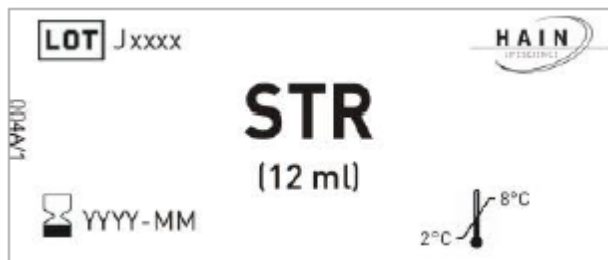
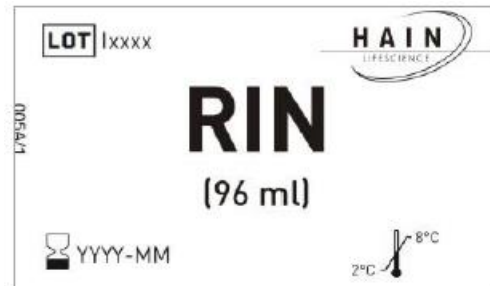
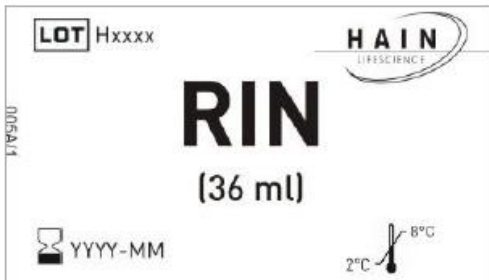
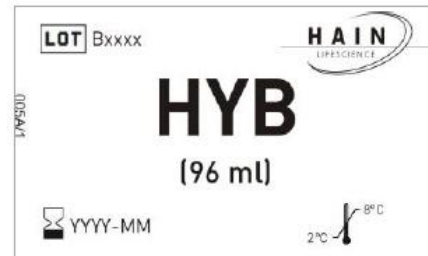
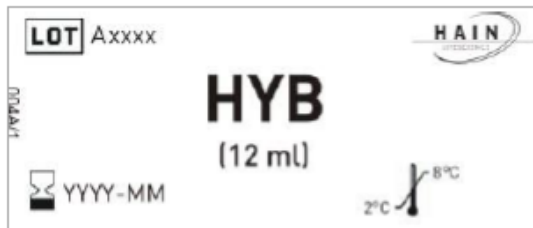
Etiquetas de las botellas de solución de hibridación (kit N° 1)

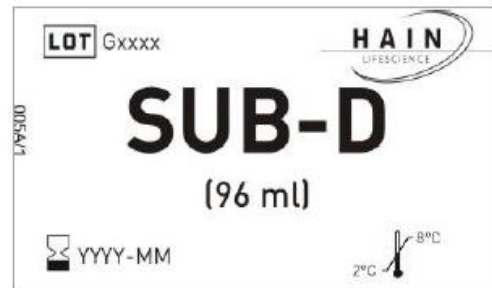
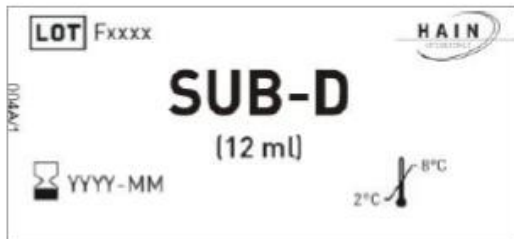
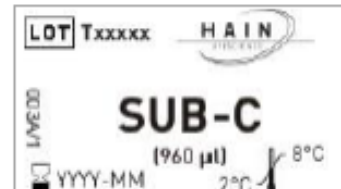
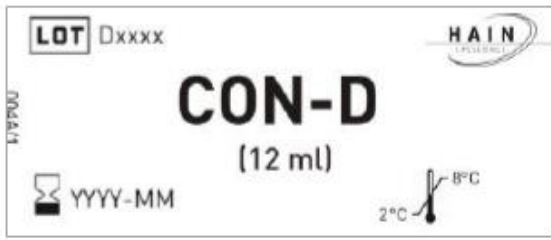
12 reacciones



Director Técnico
Firma y Sello

96 reacciones






MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT-TECNOLAB S.A.

Director Técnico
Firma y Sello

GenoType MTBDRsl

VER 2.0

Instrucciones de Uso

IFU-317A-04

CE

IVD

sólo para uso diagnóstico in vitro

2017-12-01



GenoType MTBDRsl VER 2.0

Ensayo de Genética Molecular para la Identificación del Complejo *M. tuberculosis* y sus Resistencias a Fluoroquinolonas y Aminoglicósidos/Péptidos Cíclicos a partir de Muestras de Esputo o Muestras de Cultivos

Por favor, lea las instrucciones de uso detenidamente antes de utilizar el ensayo. Cíñase estrictamente a los procesos establecidos para obtener resultados correctos.

Uso Previsto

El kit **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 es un ensayo cualitativo in vitro, para la identificación genética del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su resistencia a fluoroquinolonas (FLQ; p.ej. ofloxacino y moxifloxacino) y aminoglicósidos/péptidos cíclicos (AG/CP; antibióticos inyectables como kanamicina, amikacina, capreomicina y viomicina) a partir de muestras de esputo baciloscopia negativa o positiva, y muestras de cultivo. Las siguientes especies están incluidas en la tuberculosis causada por el complejo *M. tuberculosis*: *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis* subsp. *bovis*, *M. bovis* subsp. *caprae*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. canettii* y *M. pinnipedii*. La detección de la resistencia a fluoroquinolonas (FLQ) está activada por la detección de las principales mutaciones asociadas a resistencia de los genes *gyrA* y *gyrB* (que codifica la subunidad A y la subunidad B de la DNA girasa, respectivamente). Para la detección de resistencia a aminoglicósidos/péptidos cíclicos se examina el gen 16S rRNA (*rrs*), para la detección de resistencia de bajo nivel a la kanamicina, se examina la región promotora del gen *eis* (que codifica la acetiltransferasa Eis).

El ensayo está indicado como soporte al diagnóstico y previsto para uso en laboratorios médicos.

Resumen y Explicación

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa bacteriana contagiada por la inhalación de aerosoles transportados por el aire. En 2014, se estimaron 9,6 millones de episodios de TB a escala mundial, con 1,5 millones de muertes [1]. El tratamiento de la tuberculosis requiere una terapia de durante varios meses. La aparición y propagación de la tuberculosis resistente a los medicamentos representa un grave problema médico y público que amenaza la salud mundial. La tuberculosis multirresistente (MDR-TB) se define como una tuberculosis resistente por lo menos a los fármacos de primera línea rifampicina e isoniazida. Los otros fármacos antituberculosos conocidos como fármacos de primera línea son pirazinamida, etambutol y estreptomina. El resto de los medicamentos antituberculosos se conocen en general como fármacos de segunda línea. La tuberculosis extremadamente resistente (XDR-TB) se define como una tuberculosis resistente a la rifampicina e isoniazida y adicionalmente a uno o mas medicamentos de las clase de fluoroquinolonas y un antibiótico de segunda línea inyectable (como kanamicina y amikacina (ambos AG), o capreomicina y viomicina (ambos CP) [2]. Debido a su diagnóstico complejo y a las dificultades en el tratamiento, la XDR-TB representa un reto importante para el control de la tuberculosis.

Mientras la XDR-TB no es diagnosticada, el uso de antibióticos inadecuados y, por tanto, ineficaces puede conducir a una mayor propagación de bacterias resistentes, y a un aumento de la resistencia. Por lo tanto, el rápido diagnóstico e identificación de la XDR-TB es un requisito previo para un tratamiento adecuado. Cada DNA extraído de una muestra de esputo o de cultivo usando el kit **GenoLyse**® se puede utilizar para la amplificación con el kit **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 (por ejemplo, posterior al **GenoType MTBDRplus** VER 2.0).

Principios del Procedimiento

El ensayo **GenoType MTBDRsl** está basado en la tecnología **DNA•STRIP**. El procedimiento completo se divide en tres pasos: (i) extracción de DNA procedente de muestras de esputo descontaminadas con NALC-NaOH o de cultivo (medio sólido/medio líquido) – los reactivos necesarios no son suministrados – (ii) una amplificación multiplex con primers marcados con biotina, y (iii) una hibridación reversa.

Todos los reactivos necesarios para la amplificación, así como la polimerasa y los primers, están incluidos en las Mezclas de Amplificación A y B (AM-A y AM-B) que fueron optimizados para este ensayo. Las tiras de membrana están recubiertas con sondas específicas complementarias a los ácidos nucleicos amplificados. Después de la desnaturalización, las cadenas simples de las amplicones se unen a las sondas (hibridación). La alta especificidad de unión de las sondas con el DNA complementario está asegurada por las condiciones astringentes resultantes de la combinación de la composición del tampón y la correcta temperatura. De este modo las sondas discriminan realmente las variaciones en la secuencia de las regiones de los genes estudiados. La fosfatasa alcalina conjugada con la estreptavidina se une a la biotina de los amplicones a través de la fracción de estreptavidina. Finalmente, la fosfatasa alcalina transforma el sustrato añadido en un colorante que resulta visible en la membrana en forma de precipitado de color. Una plantilla asegura la interpretación sencilla y rápida del perfil de bandas obtenido.

Reactivos e Instrumentos

Contenido del kit

Código n° Tests	317A 12	31796A 96
Componente del Kit 1 de 2 (almacene entre 2°C y 8°C)		
Tiras de membranas recubiertas con sondas específicas (MTBDRsl VER 2.0 STRIPS)	12	2x 48
Solución de Desnaturalización (DEN) contiene <2% NaOH, colorante	240 µl	2x 960 µl
Tampón de Hibridación (HYB) contiene surfactante aniónico al <10%, colorante	12 ml	96 ml
Solución de Lavado Astringente (STR) contiene compuesto cuaternario de amonio al >25%, surfactante aniónico al <1%, colorante	12 ml	96 ml
Solución de Aclarado (RIN) contiene tampón, <1% NaCl, surfactante no iónico al <1%	36 ml	3x 96 ml
Conjugado Concentrado (CON-C) contiene fosfatasa alcalina conjugada con streptavidina, colorante	120 µl	960 µl
Tampón del Conjugado (CON-D) contiene tampón, reactivo de bloqueo al 1%, <1% NaCl	12 ml	96 ml
Sustrato Concentrado (SUB-C) contiene <70% dimetilsulfóxido, <10% 4-nitroazul de tetrazolio (NBT), <10% 5-bromo-4-cloro-3-indolilo fosfato	120 µl	960 µl
Tampón del Sustrato (SUB-D) contiene tampón, <1% MgCl ₂ , <1% NaCl	12 ml	96 ml
Bandeja, hoja de evaluación	1 de cada	4 de cada
Instrucciones de uso, plantilla	1 de cada	1 de cada
Etiqueta de los lotes	3	3
Componente del Kit 2 de 2 (almacene entre -20°C y -18°C)		
Mezcla de Amplificación A (AM-A GT MTBDRsl VER 2.0) contiene tampón, nucleótidos, Taq polimerasa	120 µl	4x 240 µl
Mezcla de Amplificación B (AM-B GT MTBDRsl VER 2.0) contiene sales, primers específicos, colorante	420 µl	4x 840 µl

Almacenamiento y eliminación de los componentes del kit

1/2 Componente del Kit 1 de 2

2/2 Componente del Kit 2 de 2

Mantenga todos los Componentes del Kit 1 entre 2°C y 8°C. Mantenga todos los Componentes del Kit 2 entre -20°C y -18°C y manténgalos estrictamente aislados de DNA contaminante. Debe evitarse las congelaciones y descongelaciones repetidas del AM-A y AM-B; si se procesan únicamente unas pocas muestras por ciclo, se debe alicuotar el AM-A y AM-B. No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad. El desecho de los reactivos no utilizados y de los residuos se realizará de acuerdo a las regulaciones federales, estatales y locales.

Precauciones para el manejo de los componentes del kit

Observe todas las normas medioambientales y de seguridad, tanto federales, estatales como locales. Lleve siempre guantes y ropa adecuada. Cuando manipule los reactivos del kit debe tomar las siguientes medidas especiales de seguridad:

El Tampón de Hibridación (**HYB**) y el Sustrato Concentrado (**SUB-C**) no está clasificados como sustancia peligrosa. Sin embargo, debido a sus ingredientes, le aplica la indicación de peligro EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad.



La Solución de Desnaturalización (**DEN**) contiene <2% de hidróxido sódico.

¡Atención!

H315: Provoca irritación cutánea. H319: Provoca irritación ocular grave.

P280: Llevar guantes/prendas/gafas de protección. P305+351+338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P313: Consultar a un médico.

Para información adicional, consulte las fichas de datos de seguridad. También puede descargarse de: www.hain-lifescience.com/products/msds.html.

El Conjugado Concentrado (**CON-C**) y el Tampón del Conjugado (**CON-D**) contienen material biológico. Por tanto deben considerarse y manipularse como potencialmente infecciosos [p.ej. ver [3] o [4]].

Materiales requeridos pero no suministrados

- Agua (destilada)
- Agua (grado biología molecular, para controles negativos)
- Baño de agua con agitación + plataforma de agitación **o** **TwinCubator** (aparato para hibridación manual) **o** aparato para hibridación automática
- Cabina de seguridad Clase II
- Cronómetro
- Guantes desechables
- Kit para extracción de DNA (**GenoLyse®**, ver capítulo Información para Pedidos) así como todos los equipo necesarios
- Papel absorbente
- Pinzas
- Pipetas ajustables de 10, 20, 200, 1000 µl
- Probeta graduada
- Puntas de pipeta desechables con filtro
- Reactivos para cultivo de micobacterias así como el equipo necesario (cuando se utilizan muestras de cultivos)
- Reactivos de descontaminación de la muestra, así como el equipamiento necesario
- Termociclador
- Tubos para PCR, libres de DNasa y RNasa

Control de Calidad

A fin de validar el funcionamiento correcto del test y la funcionalidad de los componentes del kit, cada tira incluye 6 zonas de control:

- una zona de Control de Conjugado (CC) para comprobar la unión del conjugado a la tira y una reacción cromogénica correcta
- una zona de Control de Amplificación (AC) para comprobar la amplificación correcta de la reacción
- cuatro zonas del Locus Control (*gyrA*, *gyrB*, *rrs* y *eis*) para comprobar la sensibilidad óptima de la reacción de cada loci testado

Observe las precauciones normales para preparar la amplificación. Es esencial que todos los materiales (como por ejemplo, las puntas de pipeta) que entren en contacto con los reactivos estén libres de DNasas. No intercambie o mezcle Mezclas de Amplificación o tiras de membranas de kits diferentes, excepto si tienen el mismo lote. Puede encontrar el lote del kit y los lotes correspondientes de los componentes del kit en las etiquetas de los lotes incluidas en el kit.

Debe realizarse un control negativo para la detección de una posible contaminación, añadiendo agua (grado biología molecular) en vez de DNA, en cada tanda de ensayos; la tira del ensayo debe mostrar solamente las bandas CC y AC.

Requerimiento de la Muestra

Se puede utilizar como material de partida para la extracción de DNA, muestras de esputo descontaminadas con NALC-NaOH baciloscopía negativa o positiva, así como muestras de cultivos (medio sólido/líquido). Hasta la presente edición de las instrucciones, la realización del ensayo no ha sido validada con otro tipo de muestras.

Precauciones para el manejo de muestras

Las muestras de pacientes deben ser consideradas siempre como potencialmente infecciosas y deben manejarse de acuerdo a ello [p.ej. ver [3] o [4]]. Lleve siempre guantes y ropa adecuada. Las muestras de pacientes de riesgo (infectados por microorganismos patógenos incluyendo Hepatitis B y Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)) deben ser etiquetadas y manejadas siempre bajo las condiciones de seguridad adecuadas, de acuerdo con las guías institucionales. Las muestras de pacientes deben ser centrifugadas en una cabina de seguridad de clase II o en un rotor con contenedor de aerosoles. Abrir el rotor con contenedor de aerosoles solamente en la cabina de seguridad. Para muestras inactivadas se puede utilizar un rotor estándar para centrifugar las muestras fuera de la cabina de seguridad.

El manejo de muestras de cultivos positivos debe ser llevado a cabo en una cabina de seguridad de clase II y siguiendo las recomendaciones publicadas en el CDC "Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory" [5].

Desechar las puntas de pipeta usadas inmediatamente después de su uso en un contenedor para residuos de riesgo biológico. Después de finalizar el ensayo, desechar todo el material de un solo uso en un contenedor para residuos de riesgo biológico.

Conservación y transporte

Todas las muestras deben recogerse y transportarse según las recomendaciones publicadas en el CDC "Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory" [5], el "Clinical Microbiology Procedures Handbook" [6], o según los manuales de procedimiento de su laboratorio. Debe asegurarse de que, hasta que se realice la descontaminación, los especímenes se conservan en contenedores de plástico estériles, a una temperatura entre 2°C y 8°C. El transporte de las muestras a temperatura ambiente ha de llevarse a cabo tan pronto como sea posible, en 1-2 días [7,8]. Muestras usadas para descontaminación no pueden tener más de 4 días.

Después de la descontaminación y la posterior resuspensión del pellet bacteriano en tampón fosfato, las muestras pueden almacenarse a -20 o -80°C durante un máximo de 5 días, hasta realizar la extracción de DNA.

Preparación

Las muestras clínicas deben procesarse utilizando el método "NALC/NaOH" según la publicación de la CDC "Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory" [5].

Después de la descontaminación, el precipitado de células o pellet debe resuspenderse en máx. 1-1,5 ml de tampón fosfato. Al probar muestras de pacientes, volúmenes más altos podrían incidir en la sensibilidad del ensayo. Debido a la potencial falta de homogeneidad del espécimen, la muestra descontaminada debe mezclarse antes de obtener la alícuota a analizar; de otro modo, la sensibilidad del ensayo podría verse afectada.

Cuando la muestra se debe cultivar, el cultivo se puede realizar en medio sólido (ej.: Loewenstein-Jensen, Middlebrook), o en medio líquido (ej.: MGIT (BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA)).

Extracción de DNA

Se puede utilizar como material de partida para la extracción de DNA muestras de esputo descontaminadas con NALC-NaOH baciloscopía negativas o positivas así como micobacterias cultivadas en medio sólido (ej.: Loewenstein-Jensen, Middlebrook), o en medio líquido (ej.: MGIT (BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA)). El área de trabajo ha de estar libre de DNA contaminante.

Para la extracción de DNA de muestras clínicas descontaminadas con NALC-NaOH o cultivos se usa el kit **GenoLyse®** (ver capítulo Información para Pedidos) siguiendo el protocolo A.

El método descrito arriba fue utilizado para la realización de la evaluación del ensayo **GenoType MTBDRsl**. Hasta la presente edición de las instrucciones, la realización del ensayo no ha sido validada con ningún otro método de extracción de DNA o con otro tipo de muestras.

Cada DNA extraído de una muestra de esputo o de cultivo usando el kit **GenoLyse®** se puede utilizar para la amplificación con el kit **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 (por ejemplo, posterior al **GenoType MTBDRplus** VER 2.0).

Amplificación

Todos los reactivos necesarios para la amplificación, así como la polimerasa y los primers, están incluidos en las Mezclas de Amplificación A y B (AM-A y AM-B) que fueron optimizados para este ensayo. Tras descongelar, centrifugue AM-A y AM-B brevemente y mezcle cuidadosamente pipeteando arriba y abajo. Pipetee AM-A y AM-B en una habitación libre de DNA contaminante. La solución de DNA debe añadirse en un área separada.

Prepare para cada muestra:

- 10 µl AM-A (ver Componente del Kit 2)
 - 35 µl AM-B (ver Componente del Kit 2)
 - 5 µl de solución de DNA
- Volumen final: 50 µl

Determine el número de muestras (número de muestras a analizar más las muestras de control). Prepare el número de tubos que necesite. Prepare una mezcla que contenga AM-A y AM-B y mezcle cuidadosa, pero concienzudamente. No utilice vortex. Alternativamente, puede transferirse el contenido del tubo de reacción AM-A al tubo de reacción AM-B. Se obtiene mezcla suficiente para 12 reacciones de amplificación (kit para análisis de 12 muestras) o para 4x 24 reacciones de amplificación (kit para análisis de 96 muestras). Por favor, tenga en cuenta que la mezcla madre debe ser preparada fresca para cada uso. Alicuote la mezcla madre en volúmenes de 45 µl en tubos preparados de PCR y añada 5 µl de agua (grado biología molecular) a una de las alícuotas (control negativo). Añada 5 µl de solución de DNA a cada alícuota en un área separada (excepto el control negativo).

Perfil de amplificación:

Cuando utilice un termociclador de Hain Lifescience previamente instalado, seleccione el protocolo "MDR DIR" para muestras clínicas o protocolo "MDR CUL" para muestras de cultivo.

	Muestras clínicas	Muestras de cultivo
15 min 95°C	1 ciclo	1 ciclo
30 seg 95°C } 2 min 65°C }	20 ciclos	10 ciclos
25 seg 95°C } 40 seg 50°C } 40 seg 70°C }	30 ciclos	20 ciclos
8 min 70°C	1 ciclo	1 ciclo
Rampa de calentamiento	0,2°C/seg	0,2°C/seg

Los productos de amplificación pueden almacenarse entre -20°C y +8°C.

Hibridación

Cuando utilice un aparato de hibridación de Hain Lifescience, por favor, consulte el documento "Overview equipment programs" disponible en www.hain-lifescience.com para localizar el protocolo de hibridación a usar.

El siguiente protocolo describe la hibridación manual utilizando un baño de agua o un **TwinCubator**.

Preparación

Precaliente el baño de agua con agitación a **45°C** (la máxima desviación tolerada en la temperatura idónea es de +/-1°C) o poner en marcha el **TwinCubator**. Precaliente las soluciones HYB y STR entre 37°C y 45°C antes de usar. Los reactivos han de estar libres de precipitado (tenga en cuenta, no obstante que la solución CON-D es opaca). Mezcle si fuera necesario. Caliente a temperatura ambiente los restantes reactivos, con la excepción del CON-C y el SUB-C. Usando un tubo adecuado, diluya el Conjugado Concentrado (CON-C, naranja) y el Sustrato Concentrado (SUB-C, amarillo) 1:100 con sus tampones respectivos (**CON-C con CON-D, SUB-C con SUB-D**) en las cantidades necesarias. Mezcle bien y equilibre a temperatura ambiente. Para cada tira añada 10 µl de concentrado a 1 ml de los respectivos tampones. Diluya el CON-C antes de cada uso. El SUB-C diluido es estable durante 4 semanas si se almacena a temperatura ambiente y se protege de la luz.

1. **Dispense 20 µl de la Solución de Desnaturalización (DEN, azul) en una esquina de cada uno de los pocillos usados.**
2. **Añada a la solución 20 µl de muestra amplificada, pipetee arriba y abajo para mezclar bien e incube a temperatura ambiente durante 5 minutos.**
Entre tanto, saque las tiras de sus tubos usando pinzas e identifíquelas marcando bajo el marcador coloreado con un lápiz. Lleve siempre guantes cuando manipule las tiras.
3. **Añada cuidadosamente a cada pocillo 1 ml de Tampón de Hibridación (HYB, verde) precalentado. Agite suavemente la bandeja hasta que la solución tenga un color homogéneo.**
Tenga la precaución de no derramar solución en los pocillos cercanos.
4. **Ponga una tira en cada pocillo.**
Las tiras tienen que quedar completamente cubiertas por la solución y el lado con la sonda hacia arriba (identificable por el marcador coloreado próximo al extremo inferior). Usando pinzas, de la vuelta a las tiras que pudieran haberse girado durante su inmersión. Limpie cuidadosamente las pinzas después de cada uso para evitar contaminación. Esto es también aplicable a los pasos siguientes.
5. **Ponga la bandeja en el baño de agua con agitación o en el TwinCubator durante 30 minutos a 45°C.**
Ajuste la frecuencia de agitación del baño de agua para que realice una mezcla completa y constante de la solución. Para obtener una adecuada transferencia de calor, la bandeja debe estar sumergida en el agua, al menos, 1/3 de su altura.
6. **Aspire completamente el Tampón de Hibridación.**
Por ejemplo, use una pipeta Pasteur conectada a una bomba de vacío.
7. **Añada 1 ml de Solución de Lavado Astringente (STR, roja) a cada tira e incube durante 15 minutos a 45°C en un baño con agitación o TwinCubator.**
8. **Desde este paso, en adelante, trabaje a temperatura ambiente.**
Elimine completamente la Solución de Lavado Astringente.
Deseche la Solución de Lavado en un contenedor y elimine todo el líquido restante volcando la bandeja y golpeándola suavemente sobre un papel absorbente. Esto es también aplicable a todos los demás pasos de lavado.
9. **Lave una vez cada tira con 1 ml de Solución de Aclarado (RIN) sobre la plataforma de agitado del TwinCubator (elimine el RIN después de la incubación).**
10. **Añada 1 ml de Conjugado diluido (ver más arriba) a cada tira e incube durante 30 minutos sobre la plataforma de agitado del TwinCubator.**
11. **Elimine la solución y lave cada tira dos veces durante 1 minuto con 1 ml de Solución de Aclarado (RIN) y de nuevo durante 1 minuto aproximadamente con 1 ml de agua destilada (ej.: botella de lavado) sobre la plataforma de agitación del TwinCubator (deseche la solución cada vez).**
Asegúrese de eliminar cualquier resto de agua después del lavado anterior.

12. Añada 1 ml de sustrato diluido (ver más arriba) a cada tira e incube sin agitación y protegiéndolas de la luz.

Dependiendo de las condiciones del test (por ej. la temperatura ambiente), el tiempo de incubación del sustrato, es decir, el tiempo hasta que las bandas son claramente visibles, puede variar entre 3 y 20 minutos. Tiempos prolongados de incubación del sustrato pueden conducir a una tinción incrementada del fondo y podrían dificultar la interpretación de los resultados.

13. Detenga la reacción cuando las bandas sean claramente visibles, aclarando brevemente por dos veces con agua destilada.

14. Usando pinzas, saque las tiras de la bandeja y séquelas entre dos capas de papel absorbente.

Evaluación e Interpretación de Resultados

Pegue las tiras y almacénelas protegidas de la luz. Con cada kit se proporciona una hoja de evaluación. Cuando se utilice esta hoja de evaluación, pegue las tiras reveladas en los campos marcados, alineando las bandas CC y AC con las respectivas líneas de la hoja. Por razones técnicas, la distancia entre cada sonda de la tira puede variar ligeramente. **Por tanto, para una lectura precisa, por favor utilice la plantilla que encontrará en cada kit, y alinee separadamente para cada uno de los locus detectados, con su respectiva banda Locus Control.** Determine el estado de la resistencia y anote en las respectivas columnas. Como ayuda para la interpretación, se proporcionan a continuación ejemplos de evaluación. Cada tira tiene un total de 27 zonas de reacción (ver esquema).

.....	Control de Conjugado (CC)
.....	Control de Amplificación (AC)
.....	<i>M. tuberculosis</i> complex (TUB)
.....	<i>gyrA</i> Locus Control (<i>gyrA</i>)
.....	<i>gyrA</i> sonda wild type 1 (<i>gyrA</i> WT1)
.....	<i>gyrA</i> sonda wild type 2 (<i>gyrA</i> WT2)
.....	<i>gyrA</i> sonda wild type 3 (<i>gyrA</i> WT3)
.....	<i>gyrA</i> sonda de mutación 1 (<i>gyrA</i> MUT1)
.....	<i>gyrA</i> sonda de mutación 2 (<i>gyrA</i> MUT2)
.....	<i>gyrA</i> sonda de mutación 3A (<i>gyrA</i> MUT3A)
.....	<i>gyrA</i> sonda de mutación 3B (<i>gyrA</i> MUT3B)
.....	<i>gyrA</i> sonda de mutación 3C (<i>gyrA</i> MUT3C)
.....	<i>gyrA</i> sonda de mutación 3D (<i>gyrA</i> MUT3D)
.....	<i>gyrB</i> Locus Control (<i>gyrB</i>)
.....	<i>gyrB</i> sonda wild type (<i>gyrB</i> WT)
.....	<i>gyrB</i> sonda de mutación 1 (<i>gyrB</i> MUT1)
.....	<i>gyrB</i> sonda de mutación 2 (<i>gyrB</i> MUT2)
.....	<i>rrs</i> Locus Control (<i>rrs</i>)
.....	<i>rrs</i> sonda wild type 1 (<i>rrs</i> WT1)
.....	<i>rrs</i> sonda wild type 2 (<i>rrs</i> WT2)
.....	<i>rrs</i> sonda de mutación 1 (<i>rrs</i> MUT1)
.....	<i>rrs</i> sonda de mutación 2 (<i>rrs</i> MUT2)
.....	<i>eis</i> Locus Control (<i>eis</i>)
.....	<i>eis</i> sonda wild type 1 (<i>eis</i> WT1)
.....	<i>eis</i> sonda wild type 2 (<i>eis</i> WT2)
.....	<i>eis</i> sonda wild type 3 (<i>eis</i> WT3)
.....	<i>eis</i> sonda de mutación 1 (<i>eis</i> MUT1)
.....	marcador coloreado

Nota: La tira no se muestra a tamaño original.

Control de Conjugado (CC)

Debe aparecer una línea en esta zona, documentando la eficacia del conjugado unido y la reacción del sustrato.

Control de Amplificación (AC)

Cuando el ensayo se realiza correctamente, un amplicón control se unirá a la zona del Control de Amplificación.

En caso de un resultado positivo del ensayo, la señal del Control de Amplificación puede ser débil e incluso puede llegar a desaparecer completamente. Esto puede ser debido a reacciones de competencia durante la amplificación. En este caso, el ensayo se realizó correctamente y no tiene que ser repetido.

Cuando solamente se desarrollan las bandas CC y AC, esto representa un resultado negativo válido. La ausencia de señal, en la banda AC en caso de un ensayo negativo, indica errores durante la preparación y/o la realización de la amplificación o la presencia en la muestra de inhibidores de amplificación. En este caso, el resultado no es válido y el ensayo ha de ser repetido con la muestra respectiva.

M. tuberculosis complex (TUB)

Esta zona hibrida con amplicones generados de todos los miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Si la zona TUB es negativa y no se desarrolla ninguna banda de resistencia, la muestra ensayada no contiene bacterias que pertenecen al complejo *M. tuberculosis* y no puede ser evaluada mediante este sistema.

Locus Control (*gyrA*, *gyrB*, *rrs*, *eis*)

Las zonas de Locus Control detectan regiones de genes específicas del correspondiente locus. En caso de un resultado positivo del ensayo (bandas de tipo wild type y bandas de mutación evaluables), las señales de las bandas de Locus Control pueden ser débiles.

gyrA

Ambos genes *gyrA* y *gyrB* se examinan para la detección de resistencia a fluoroquinolonas FLQ (por ejemplo, ofloxacina o moxifloxacina).

Las sondas de tipo wild type cubren las regiones de resistencia más importantes del gen *gyrA* (véase la tabla 1). Cuando todas las sondas de tipo wild type se tiñen positivas, no hay mutación detectable dentro de la región examinada. En caso de una mutación, el respectivo amplicón no puede unirse a la sonda de tipo wild type correspondiente, lo que resulta en la ausencia de señal de la sonda wild type.

Las sondas de mutación detectan algunas de las mutaciones más comunes responsables de resistencia (véase la tabla 1).

Cada patrón que se desvíe del patrón wild type (véase el ejemplo de evaluación 1) indica resistencia de la cepa testada a fluoroquinolonas.

Tabla 1: Mutaciones en el gen *gyrA* y bandas correspondientes de tipo wild type y de mutación (de acuerdo con [9,10,11,12]).

Ausencia de banda wild type	Desarrollo de banda de mutación	Mutación	Resistencia fenotípica
<i>gyrA</i> WT1	-	G88A G88C	
<i>gyrA</i> WT2	<i>gyrA</i> MUT1 <i>gyrA</i> MUT2	A90V S91P	
<i>gyrA</i> WT3	<i>gyrA</i> MUT3A <i>gyrA</i> MUT3B <i>gyrA</i> MUT3C <i>gyrA</i> MUT3D	D94A D94N D94Y D94G D94H ¹⁾	FLQ

¹⁾ Esta mutación rara ha sido detectada sólo teóricamente (in silico).

gyrB

Ambos genes *gyrA* y *gyrB* se examinan para la detección de resistencia a fluoroquinolonas (por ejemplo, ofloxacina o moxifloxacina).

La sonda de tipo wild type cubre la región de resistencia más importante del gen *gyrB* (véase la tabla 2). Cuando la sonda de tipo wild type se tiñe positiva, no hay mutación detectable dentro de la región examinada. En caso de una mutación, el correspondiente amplicón no puede unirse a la sonda de tipo wild type, resultando en la ausencia de señal de la sonda wild type.

Las sondas de mutación detectan las mutaciones más comunes responsables de resistencia (véase la tabla 2). Mutaciones adicionales dentro de la región del gen *gyrB* examinada que causan la ausencia de una banda de tipo wild type, pero no son detectadas por las sondas de mutación también pueden provocar resistencia a fluoroquinolonas [13].

Tabla 2: Mutaciones en el gen *gyrB* y bandas de tipo wild type y de mutación correspondientes (de acuerdo con [13])

Ausencia de banda wild type	Desarrollo de banda de mutación	Mutación ¹⁾	Resistencia fenotípica
<i>gyrB</i> WT	<i>gyrB</i> MUT1 <i>gyrB</i> MUT2	N538D E540V	FLQ

¹⁾ Las posiciones de aminoácidos se numeran según [14].

rrs

El gen *rrs* se examina para la detección de resistencias cruzadas a los antibióticos aminoglicósidos/péptidos cíclicos como kanamicina (KAN) y amikacina (AMK) ambos AG, o capreomicina (CAP) y viomicina (VIO), ambos CP.

Las sondas de tipo wild type cubren las principales regiones de resistencia del gen *rrs* (véase la tabla 3). Cuando las dos sondas de tipo wild type se tiñen positivas, no hay mutación detectable dentro de la región examinada. En caso de una mutación, el correspondiente amplicón no puede unirse a la sonda de tipo wild type, resultando en la ausencia de señal de la sonda de tipo wild type.

Las sondas de mutación detectan las mutaciones responsables de resistencia más comunes (véase la tabla 3).

Cada patrón que se desvíe del patrón wild type (véase el ejemplo de evaluación 1) indica resistencia de la cepa testada a los AG/CP. Las resistencias cruzadas detectables se muestran en la tabla más abajo.

Tabla 3: Mutaciones en el gen *rrs*, bandas de tipo wild type y de mutación correspondientes, y resistencias cruzadas resultantes (de acuerdo con [15,16]).

Ausencia de banda wild type	Ácido nucleico analizado posición	Desarrollo de banda de mutación	Mutación	Resistencia fenotípica				Véase figura 1
<i>rrs</i> WT1	1401	<i>rrs</i> MUT1	A1401G	KAN	AMK	CAP		ejemplos 2 y 6
	1402	-	C1402T	KAN		CAP	VIO	ejemplo 3
<i>rrs</i> WT2	1484	<i>rrs</i> MUT2	G1484T	KAN	AMK	CAP	VIO	ejemplo 4

KAN, kanamicina; AMK, amikacina; CAP, capreomicina; VIO, viomicina

eis

El gen *eis* se examina para la detección de resistencia de bajo nivel a kanamicina.

Las sondas de tipo wild type cubren las principales regiones de resistencia del gen *eis* (véase la tabla 4).

Cuando todas las sondas de tipo wild type se tiñen positivas, no hay mutación detectable dentro de la región examinada. En caso de una mutación, el correspondiente amplicón no puede unirse a la sonda de tipo wild type respectiva, resultando en la ausencia de señal de la sonda de tipo wild type.

La sonda de mutación detecta las mutaciones más comunes responsables de resistencia (véase la tabla 4). Mutaciones adicionales dentro de la región del gen *eis* examinada además de las enumeradas en la tabla 4 son conocidas [19]. Estas mutaciones que pueden causar la ausencia de una banda de tipo wild type, pero no son detectadas por la sonda de mutación, también pueden causar resistencia de bajo nivel a kanamicina.

Tabla 4: Mutaciones en la región promotora del gen *eis* y bandas de tipo wild type y de mutación correspondientes de acuerdo con [17,18,19,20])

Ausencia de banda wild type	Desarrollo de banda de mutación	Mutación	Resistencia fenotípica
<i>eis</i> WT1	-	G-37T	
	<i>eis</i> MUT1	C-14T	
<i>eis</i> WT2	-	C-12T	bajo nivel KAN
	-	G-10A	
<i>eis</i> WT3	-	C-2A	

Por favor, note:

Solamente han de considerarse aquellas bandas cuyas intensidades sean tan fuertes, o más fuertes, que la intensidad de la zona de Control de Amplificación (AC).

No todas las bandas de una tira han de mostrar la misma intensidad.

Cuando una sonda de mutación y la sonda de tipo wild type correspondiente de una tira se desarrollan, el resultado es considerado válido. Las posibles razones podrían ser:

- La muestra analizada contiene una cepa heterorresistente.
- La muestra analizada contiene más de una cepa del complejo *M. tuberculosis* (por ejemplo, debido a una infección mixta del paciente).

Teóricamente, una resistencia puede existir a pesar de un patrón de tipo wild type. Las posibles razones podrían ser:

- La muestra analizada contiene una cepa que ha desarrollado una heteroresistencia y la resistencia es causada por una mutación no cubierta por las sondas de mutación.
- La muestra analizada contiene un patrón de tipo wild type y una cepa resistente (debido por ejemplo a una infección mixta del paciente) y la resistencia es causada por una mutación no cubierta por las sondas de mutación.

Cuando un locus completo del gen (todas las bandas, incluyendo la banda de Locus Control) está ausente, el resultado no es válido. Si este resultado se genera desde una muestra clínica, la posible razón puede ser, entre otros, una concentración de DNA en la muestra inferior al límite de detección.

Ejemplos de Evaluación

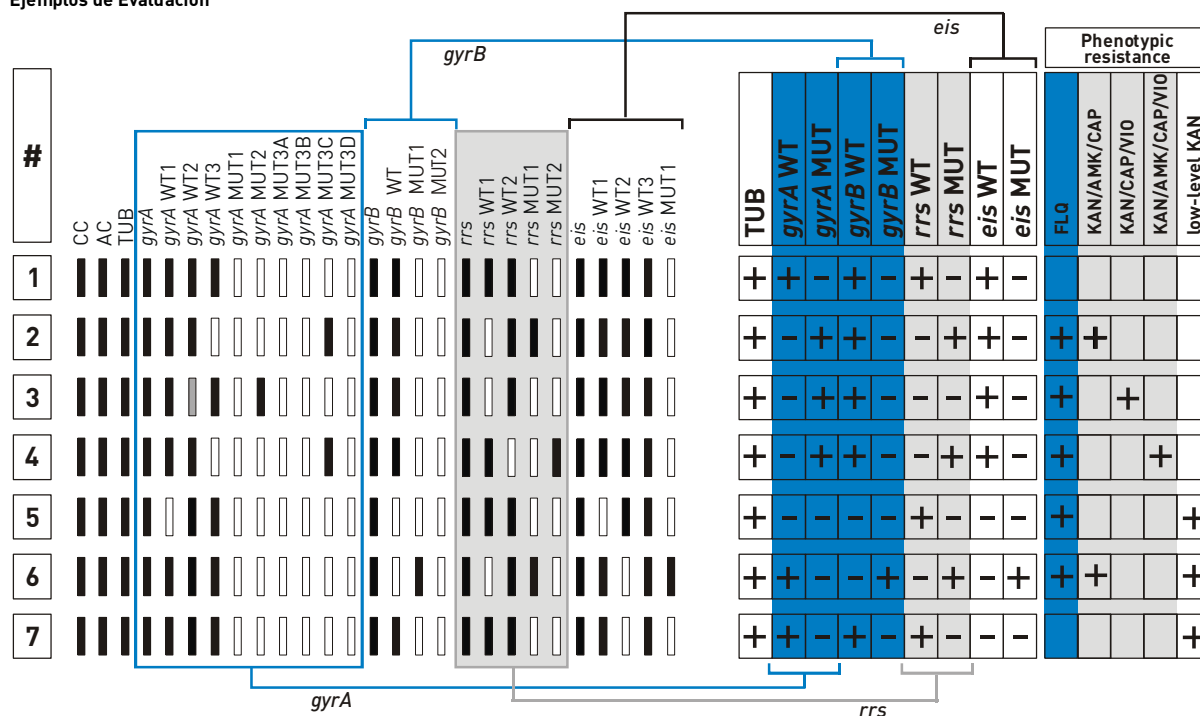


Figura 1: Ejemplos para modelos de bandeo y su evaluación con respecto a la resistencias a fluoroquinolonas (FLQ) y/o aminoglicósidos/péptidos cíclicos (AG/CP)

Si todas las bandas de tipo wild type de un gen desarrollan una señal, el resultado se considera como positivo y se marca un "+" en la columna WT del gen respectivo. Si al menos una de las bandas de tipo wild type está ausente, el resultado se considera como negativo y se identifica en la columna WT como "-". En las columnas MUT, se introduce un resultado negativo solamente cuando ninguna de las bandas de mutación del gen correspondiente desarrolla una coloración. Si por lo menos una de las bandas de mutación muestra una coloración, el resultado se clasifica como positivo y la columna MUT del gen respectivo se marca con un "+". Para las columnas de resistencia un "+" se representa sólo si al menos una entrada en las columnas WT y MUT se desvía del patrón de tipo wild type del gen respectivo en el ejemplo 1.

Los ejemplos mostrados más arriba se explican a continuación:

El ejemplo 1 muestra el patrón de bandas de tipo wild type. Todas las sondas de tipo wild type pero ninguna de las sondas de mutación muestran una señal; por lo tanto, la tabla de evaluación indica "+" en las cuatro columnas de tipo wild type y "-" en las cuatro columnas de mutación. En consecuencia, no se introduce ninguna entrada en los campos de las columnas de resistencia.

Ejemplo 2: Una de las bandas *gyrA* de tipo wild type está ausente y una de las bandas de mutación *gyrA* se desarrolla. Por lo tanto, en la tabla de evaluación, la columna "*gyrA* WT" se marca con un "-" y la columna "*gyrA* MUT" con un "+". El locus *gyrB* muestra el patrón de bandas de tipo wild type resultando en una entrada de tipo wild type como en el ejemplo 1. Debido al patrón de bandas *gyrA*, la cepa se evalúa como resistente a fluoroquinolonas. La banda de tipo wild type "*rrs* WT1" está ausente, y la banda de mutación "*rrs* MUT1" se desarrolla; por lo tanto, el campo en la columna "*rrs* WT" se marca con un "-", el campo en la columna "*rrs* MUT" con un "+", y la cepa se evalúa como presentando una resistencia cruzada a KAN, AMK y CAP (véase la tabla 3). Por último, las sondas del locus *eis* muestran el patrón de bandas de tipo wild type; por lo tanto, las columnas "*eis* WT" y "*eis* MUT" se marcan de acuerdo con el ejemplo 1 y no se detecta resistencia de bajo nivel a kanamicina.

Ejemplo 3: La banda "*gyrA* WT2" está ausente (la intensidad de señal es menor que la del AC) y la banda "*gyrA* MUT2" se desarrolla. En consecuencia, el campo en la columna "*gyrA* WT" se marca con un "-" y el campo en la columna "*gyrA* MUT" con un "+". El locus *gyrB* muestra el patrón de bandas de tipo wild type que se representa en consecuencia. Debido al resultado en *gyrA*, una resistencia a fluoroquinolonas se asigna a la cepa testada. La banda *rrs* de tipo wild type está ausente, pero ninguna de las bandas de mutación *rrs* se desarrolla; por lo tanto, los campos de las columnas "*rrs* WT" y "*rrs* MUT" se marcan con un "-" y se identifica una resistencia cruzada a KAN, CAP y VIO (véase la tabla 3). El locus *eis* muestra el patrón de bandas de tipo wild type que se representa en consecuencia.

Ejemplo 4: Una de las bandas *gyrA* de tipo wild type está ausente y una de las bandas de mutación *gyrA* se desarrolla. En la tabla de evaluación, un “-” se representa en el campo de la columna “*gyrA* WT” y el campo de la columna “*gyrA* MUT” se marca con un “+”. El locus *gyrB* muestra el patrón de bandas de tipo wild type que se representa en consecuencia. Debido al resultado de *gyrA*, una resistencia a fluoroquinolonas se asigna a la cepa testada. La banda de tipo wild type “*rrs* WT2” está ausente y la banda de mutación “*rrs* MUT2” se desarrolla; por lo tanto, el campo en la columna “*rrs* WT” se marca con un “-”, el campo en la columna “*rrs* MUT” con un “+”, y se identifica una resistencia cruzada de la cepa testada a KAN, AMK, CAP y VIO (véase la tabla 3). El locus *eis* muestra el patrón de bandas de tipo wild type que se representa en consecuencia.

Ejemplo 5: En ambos locus *gyrA* y *gyrB*, una banda de tipo wild type está ausente y ninguna de las bandas de mutación *gyrA* y *gyrB* se desarrolla. Por lo tanto, todas las columnas *gyrA* y *gyrB* se marcan con un “-” y una resistencia a fluoroquinolonas se asigna a la cepa testada. El locus *rrs* muestra el patrón de bandas de tipo wild type que se representa en consecuencia. Por último, una de las bandas *eis* de tipo wild type está ausente; por lo tanto, ambos campos de las columnas “*eis* WT” y “*eis* MUT” se marcan con un “-” y se identifica una resistencia de bajo nivel a kanamicina.

El ejemplo 6 muestra el patrón de bandas de tipo wild type para el locus *gyrA* que se representa en consecuencia. La banda de tipo wild type *gyrB* está ausente y una de las bandas de mutación *gyrB* se desarrolla. Por lo tanto, en la tabla de evaluación, un “-” se representa en el campo de la columna “*gyrB* WT” y un “+” en el campo de la columna “*gyrB* MUT”. Debido al resultado de *gyrB*, una resistencia a fluoroquinolonas se asigna a la cepa testada. La banda de tipo wild type “*rrs* WT1” está ausente y la banda de mutación “*rrs* MUT1” se desarrolla; por lo tanto, el campo en la columna “*rrs* WT” se marca con un “-”, el campo en la columna “*rrs* MUT” con un “+”, y se indica que la cepa testada presenta una resistencia cruzada a KAN, AMK y CAP (véase la tabla 3). Una de las bandas *eis* de tipo wild type está ausente y la banda de mutación *eis* se desarrolla. Por lo tanto, la columna “*eis* WT” se marca con un “-”, la columna “*eis* MUT” con un “+”, y una resistencia de bajo nivel a kanamicina se asigna a la cepa testada.

Ejemplo 7: Tanto el locus *gyrA* como el locus *gyrB* muestran el patrón de tipo wild type que se representa en consecuencia con respecto a la resistencia a fluoroquinolonas. El locus *rrs* muestra el patrón de tipo wild type que se representa en consecuencia. Una de las bandas *eis* de tipo wild type está ausente. Por lo tanto, un “-” se representa en las columnas “*eis* WT” y “*eis* MUT” de la tabla de evaluación, y una resistencia de bajo nivel a kanamicina se asigna a la cepa testada.

Limitaciones

Cíñase estrictamente a los protocolos establecidos y procedimientos, para obtener resultados correctos y evitar contaminaciones.

La utilización de este ensayo está limitada a personas cualificadas, bien entrenadas en el procedimiento de utilización del ensayo y familiarizadas con métodos de biología molecular.

El test refleja los conocimientos actuales de Hain Lifescience.

Los resultados de este ensayo sólo pueden interpretarse en conjunción con otros datos clínicos y de laboratorio adicionales, a disposición del facultativo responsable. Además, deben considerarse en ciertos casos los resultados de la determinación fenotípica de resistencias.

El usuario debe tener o adquirir información sobre el patrón de distribución de las mutaciones locales de los genes investigados con este test. Podría ser necesaria la confirmación de los resultados del ensayo a través de la determinación de la resistencia fenotípica.

Como en cualquier análisis basado en DNA, este test solamente analiza la secuencia de ácidos nucleicos y no la de aminoácidos. Es posible, por tanto, que mutaciones en la región de la sonda que no causan un cambio de aminoácido (mutaciones silenciosas) puedan producir la ausencia de una de las bandas wild type.

El ensayo **GenoType MTBDRsl** sólo detecta las resistencias que tienen su origen en las regiones de los genes *gyrA*, *gyrB*, *rrs* y *eis* aquí examinadas. Resistencias causadas por mutaciones de otros genes o regiones de genes, así como otros mecanismos de resistencia a fluoroquinolonas o aminoglicósidos/péptidos cíclicos no serán detectados por esta prueba.

El test sólo funciona dentro de los límites de las regiones genómicas para las que los primers y sondas han sido elegidos.

Por favor, tenga en cuenta que los efectos debidos a las mutaciones múltiples fuera de las secuencias investigadas no pueden ser detectados con este ensayo.

Como cualquier sistema de detección basado en la hibridación, este sistema contempla la posibilidad de que variaciones de las secuencias en las regiones genómicas que fueron elegidas para los primers y sondas, y la detección de regiones para las cuales el kit no fue diseñado, pueden conducir a resultados falsos. Debido a la gran variabilidad existente en los genomas bacterianos es posible que ciertos subtipos puedan no ser detectados.

Los miembros del complejo *M. tuberculosis* no pueden ser diferenciados.

La presencia de múltiples especies de bacterias en la muestra a analizar puede dificultar la interpretación de resultados.

Al igual que cualquier método de detección de DNA este sistema de ensayo detecta DNA tanto de bacterias viables como no viables. Por tanto, el ensayo **GenoType MTBDRsl** no puede ser utilizado para monitorización de la progresión o el éxito del tratamiento de pacientes bajo terapia antibiótica.

El ensayo **GenoType MTBDRsl** genera resultados cualitativos. La intensidad de las bandas en una tira no informa acerca del número de células en una muestra positiva.

La evaluación del rendimiento del ensayo fue realizada utilizando el kit **GenoLyse**® para extracción de DNA a partir de muestras de esputo descontaminadas con NALC-NaOH basiscoscopia positivas o negativas, y de muestras de cultivo. Hasta la presente edición de las instrucciones, la realización del ensayo no ha sido validada con ningún otro método de extracción de DNA o otro tipo de muestras.

Anomalías

Todas la señales son débiles o no hay señales (incluyendo la zona de Control de Conjugado)

- Temperatura ambiente demasiado baja o reactivos no equilibrados a temperatura ambiente.
- Se ha usado muy poco, o nada, de CON-C y/o SUB-C.

Debe repetirse la hibridación reversa.

Ausencia de señales, o señales débiles, excepto en la zona de Control de Conjugado

- La calidad del DNA extraído no permite una amplificación eficiente. Repita la extracción.
- Las Mezclas de Amplificación (AM-A y AM-B) han sido mezcladas de manera inadecuada, invertidas o añadidas en cantidades inadecuadas. Prepare una nueva mezcla madre y repita la amplificación.
- Temperatura de incubación demasiado alta. Debe repetirse la hibridación reversa.

Tinción no homogénea

- Tiras no sumergidas por completo durante los pasos de incubación.
- Bandeja no agitada adecuadamente.

Debe repetirse la hibridación reversa.

Fuerte color de fondo

- CON-C y/o SUB-C se han usado demasiado concentrados.
- Los pasos de lavado no fueron realizados con el cuidado necesario.
- Soluciones de lavado demasiado frías.

Debe repetirse la hibridación reversa.

Resultado inesperado

- Temperatura de incubación incorrecta.
- El Tampón de Hibridación y/o la Solución de Lavado Astringente no se ha precalentado o mezclado adecuadamente.
- Contaminación de pocillos adyacentes debido a derrame durante la adición del Tampón de Hibridación.
Debe repetirse la hibridación reversa.
- Contaminación de DNA extraído con DNA extraído o amplificado previamente. Repita la extracción.
- Contaminación de los reactivos de amplificación. En este caso, el control negativo muestra bandas adicionales al CC y AC. Repita la amplificación usando nuevos reactivos.
- Dependiendo de la cantidad de DNA usado, y dependiendo de las condiciones específicas de la reacción, puede producirse un desarrollo fuerte y rápido del color. En tales casos interrumpa la incubación del sustrato tan pronto como las señales sean claramente visibles a fin de evitar bandas de hibridación cruzada. Si es necesario, la cantidad de amplicón utilizado para la hibridación reversa se puede reducir hasta 5 µl.
- Cultivo no puro como material de partida. Vuelva a cultivarlo para eliminar la contaminación.
- Inadecuada toma de la muestra, almacenamiento, transporte o preparación de ésta. Solicite nueva muestra y repita el ensayo.
- Error durante la extracción de DNA. Repita la extracción.

Información para Pedidos**Código n°**

GenoType MTBDRsI VER 2.0 (kit para análisis de 12 muestras)	317A
GenoType MTBDRsI VER 2.0 (kit para análisis de 96 muestras)	31796A
GenoLyse® (kit de extracción manual de DNA para 12 muestras)	51612
GenoLyse® (kit de extracción manual de DNA para 96 muestras)	51610

Performance Characteristics

The performance evaluation of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 was carried out according to the instructions for use on hand.

Diagnostic performance

1. Clinical specimens

Diagnostic performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 were determined in a study with 352 sputum specimens. The study specimens were collected in a high MDR-TB burden country. Both untreated patients as well as patients with previous or current anti-TB-treatment were included in the study.

The **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 was compared to culture (successful cultivation on Loewenstein-Jensen solid medium or in MGIT [BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA] and subsequent *M. tuberculosis* complex (MTBC) identification using the **GenoType Mycobacterium CM** VER 1.0). For discrepant culture-negative specimens, the result of the **GenoType MTBDRplus** VER 2.0 was used as reference method.

Furthermore, the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 was compared to conventional drug susceptibility testing (DST) using BACTEC MGIT 960 [BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA] and Loewenstein-Jensen proportion method. Specimens with discrepant results were examined by sequencing the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 amplification region.

Additionally, all samples were examined by microscopy.

DNA extraction from NALC-NaOH-decontaminated sputum specimens was performed with the **GenoLyse**® kit according to the instructions for use.

21 specimens were excluded due to ambiguous DST results or contaminated cultures.

For the detection of MTBC, test results were rated true-positive if the result of **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 was consistent with an MTBC-positive result of culture/**GenoType Mycobacterium CM** VER 1.0 or, in case of a culture-negative specimen, if a TB infection was indicated by an MTBC-positive **GenoType MTBDRplus** VER 2.0 result from the respective clinical specimen.

Table 1: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of MTBC from sputum specimens compared to culture/**GenoType Mycobacterium CM** VER 1.0 (GT Myco CM) or to culture/GT Myco CM and **GenoType MTBDRplus** VER 2.0 (GT MTBDRplus V2) result from the respective clinical specimens

	GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/GT Myco CM		Sens: 98.8% Spec: 89.6% PPV: 96.9% NPV: 95.8%	Culture/GT Myco CM + GT MTBDRplus V2		Sens: 98.9% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 95.8%	
		positive	negative		positive	negative		
total		positive	251	8		positive	259	0
		negative	3	69		negative	3	69
smear-positive		positive	232	8	Sens: 99.6% Spec: /* PPV: 96.7% NPV: /*	positive	240	0
		negative	1	2		negative	1	2
smear-negative		positive	19	0	Sens: 90.5% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 97.1%	positive	19	0
		negative	2	67		negative	2	67

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value

* no value due to low sample number

For evaluation of resistance detection, the 251 MTBC-positive samples (positive both in culture and with **GenoType MTBDRsl** VER 2.0) were used. Test results were rated true-positive if the result of **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 was consistent with the DST result or, in case of divergent results, if the result of **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 was confirmed by sequencing from culture material of the respective sample.

Table 2: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of fluoroquinolone (FLQ) resistance from sputum specimens compared to culture/DST (tested with ofloxacin) or to culture/DST and sequencing

GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/DST		Sens: 93.1% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 98.0%	Culture/DST + sequencing		Sens: 96.4% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 99.0%
	FLQ-R	FLQ-S		FLQ-R	FLQ-S	
	FLQ-R	54	0	FLQ-R	54	0
	FLQ-S	4	193	FLQ-S	2	195

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value;

FLQ-R, fluoroquinolone-resistant; FLQ-S, fluoroquinolone-sensitive

Table 3: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of amikacin (AMK) resistance from sputum specimens compared to culture/DST or to culture/DST and sequencing

GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/DST		Sens: 94.7% Spec: 98.1% PPV: 90.0% NPV: 99.1%	Culture/DST + sequencing		Sens: 97.3% Spec: 98.1% PPV: 90.0% NPV: 99.5%
	AMK-R	AMK-S		AMK-R	AMK-S	
	AMK-R	36	4	AMK-R	36	4
	AMK-S	2	209	AMK-S	1	210

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value;

AMK-R, amikacin-resistant; AM-S, amikacin-sensitive

Table 4: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of capreomycin (CAP) resistance from sputum specimens compared to culture/DST or to culture/DST and sequencing

GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/DST		Sens: 90.0% Spec: 98.1% PPV: 90.0% NPV: 98.1%	Culture/DST + sequencing		Sens: 97.3% Spec: 98.1% PPV: 90.0% NPV: 99.5%
	CAP-R	CAP-S		CAP-R	CAP-S	
	CAP-R	36		4	CAP-R	
CAP-S	4	207	CAP-S	1	210	

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value;
CAP-R, capreomycin-resistant; CAP-S, capreomycin-sensitive

Table 5: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of kanamycin (KAN) resistance from sputum specimens compared to culture/DST or to culture/DST and sequencing

GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/DST		Sens: 94.8% Spec: 96.6% PPV: 92.4% NPV: 97.7%	Culture/DST + sequencing		Sens: 98.6% Spec: 96.6% PPV: 92.4% NPV: 99.4%
	KAN-R	KAN-S		KAN-R	KAN-S	
	KAN-R	73		6	KAN-R	
KAN-S	4	168	KAN-S	1	171	

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value;
KAN-R, kanamycin-resistant; KAN-S, kanamycin-sensitive

2. Culture samples

The diagnostic performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 were determined in a study with 100 MTBC-positive culture samples.

The study samples obtained from a culture collection comprised MTBC strains originating from high MDR-TB burden countries as well as from low MDR-TB burden countries.

The **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 was compared to conventional drug susceptibility testing (DST) using BACTEC MGIT 960 (BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA) and Loewenstein-Jensen proportion method. Specimens with discrepant results were examined by sequencing the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 amplification region.

DNA extraction was performed using the **GenoLyse**[®] kit according to the instructions for use.

For kanamycin (KAN), DST was performed retrospectively using frozen culture aliquots that were recultivated. 89/100 samples yielded results; 11 samples could not be recultivated and were therefore excluded from the evaluation of KAN resistance.

Table 6: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of fluoroquinolone (FLQ) resistance from culture samples compared to culture/DST (tested with ofloxacin) or to culture/DST and sequencing

GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/DST		Sens: 93.9% Spec: 98.5% PPV: 96.9% NPV: 97.1%	Culture/DST + sequencing		Sens: 100% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 100%
	FLQ-R	FLQ-S		FLQ-R	FLQ-S	
	FLQ-R	31		1	FLQ-R	
FLQ-S	2	66	FLQ-S	0	68	

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value;
FLQ-R, fluoroquinolone-resistant; FLQ-S, fluoroquinolone-sensitive

Table 7: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of amikacin (AMK) resistance from culture samples compared to culture/DST

GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/DST		Sens: 100% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 100%
	AMK-R	AMK-S	
	AMK-R	35	
AMK-S	0	65	

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value;
AMK-R, amikacin-resistant; AM-S, amikacin-sensitive

Table 8: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of capreomycin (CAP) resistance from culture samples compared to culture/DST or to culture/DST and sequencing

GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/DST		Sens: 84.6% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 91.0%	Culture/DST + sequencing		Sens: 100% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 100%
	CAP-R	CAP-S		CAP-R	CAP-S	
	CAP-R	33		0	CAP-R	
CAP-S	6	61	CAP-S	0	67	

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value;
CAP-R, capreomycin-resistant; CAP-S, capreomycin-sensitive

Table 9: Performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 for detection of kanamycin (KAN) resistance from culture samples compared to culture/DST or to culture/DST and sequencing.

GenoType MTBDRsl VER 2.0	Culture/DST		Sens: 94.4% Spec: 98.1% PPV: 97.1% NPV: 96.3%	Culture/DST + sequencing		Sens: 100% Spec: 100% PPV: 100% NPV: 100%
	KAN-R	KAN-S		KAN-R	KAN-S	
	KAN-R	34		1	KAN-R	
KAN-S	2	52	KAN-S	0	54	

Sens, diagnostic sensitivity; Spec, diagnostic specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value;
KAN-R, kanamycin-resistant; KAN-S, kanamycin-sensitive

Further diagnostic performance characteristics of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 have been published within the scope of an international multicenter study [21].

Analytical performance

Analytical specificity

The specificity of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 is ensured by the accurate design of specific primers and probes which considers, among others, homology comparisons of the sequences published in gene databases, and by stringent reaction conditions.

The analytical specificity was determined with eight *M. tuberculosis* complex strains: *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis* BCG, *M. bovis* subsp. *bovis*, *M. bovis* subsp. *caprae*, *M. canettii*, *M. microti*, and *M. pinnipedii* (all sensitive to fluoroquinolones (FLQ) and to aminoglycosides/cyclic peptides (AG/CP)). The following 40 strains not detectable with the test system were also analyzed: *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium spec.*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium abscessus*, *M. alvei*, *M. asiaticum*, *M. avium*, *M. celatum*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. gastri*, *M. genavense*, *M. goodii*, *M. gordonae*, *M. haemophilum*, *M. immunogenum*, *M. interjectum*, *M. intermedium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. lentiflavum*, *M. mageritense*, *M. malmoense*, *M. marinum*, *M. mucogenicum*, *M. peregrinum*, *M. scrofulaceum*, *M. shimoidei*, *M. simiae*, *M. smegmatis*, *M. szulgai*, *M. triplex*, *M. ulcerans*, *M. xenopi*, *Nocardia spec.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *S. pneumoniae*.

The eight *M. tuberculosis* complex isolates were correctly identified as FLQ- and AG/CP-sensitive MTBC strains. All other 40 isolates displayed invalid band patterns. Hence, an analytical specificity of 100% was achieved.

Analytical sensitivity (limit of detection, LOD)

To determine the LOD of the **GenoType MTBDRsl** for clinical samples, three BCG culture dilutions (FLQ- and AG/CP-sensitive, 1500, 150, and 15 CFU/ml) were prepared in triplicate. Including a negative control, DNA was extracted using the **GenoLyse**[®] kit and analyzed with the **GenoType MTBDRsl** applying the "MDR DIR" PCR protocol. An LOD of 150 CFU/ml was determined.

To determine the LOD of the **GenoType MTBDRsl** for culture samples, three BCG culture dilutions (FLQ- and AG/CP-sensitive, 1.65x 10⁶, 1.65x 10⁵, and 1.65x 10⁴ CFU/ml) were set up in triplicate. Including a negative control, DNA was extracted using the **GenoLyse**[®] kit and analyzed with the **GenoType MTBDRsl** applying the "MDR CUL" PCR protocol. An LOD of 1.65x 10⁵ CFU/ml was determined.

Reproducibility

In order to determine the intra-assay precision of the **GenoType MTBDRsl**, three BCG culture dilutions (FLQ- and AG/CP-sensitive; one above, one at, and one below the LOD) and one negative control were set up in four parallels and tested under identical conditions applying the "MDR DIR" PCR protocol. DNA extraction was performed using the **GenoLyse**[®] DNA extraction kit. All parallels showed identical and correct banding patterns and comparable signal strengths. Additionally, signal strengths between different sample dilutions were comparable. Hence, an intra-assay precision of 100% was achieved.

In order to determine the inter-assay precision of the **GenoType MTBDRsl**, three BCG culture dilutions (one above, one at, and one below the LOD) and a negative control were tested at three different points in time. Apart from the varied parameter, all other testing conditions were identical. DNA extraction was performed using the **GenoLyse**[®] DNA extraction kit and the isolates were analyzed with the **GenoType MTBDRsl** applying the "MDR DIR" PCR protocol. No deviations were detected between parallel samples, that is between runs banding patterns were identical and correct, and signal strengths were comparable. Hence, the inter-assay precision was 100%.

Interfering substances

There are substances that may inhibit PCR reactions. Such inhibitors may, for example, originate from the culture medium. In order to assess if the medium influences the **GenoType MTBDRsl**, 6 different *M. tuberculosis* complex samples (3x FLQ- and AG/CP-sensitive, 2x FLQ-sensitive and AG/CP-resistant, 1x FLQ- and AG/CP-resistant) were cultured in 4 different media (solid media: Loewenstein-Jensen, Stonebrink, and Middlebrook-7H10; liquid medium: MGIT (BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA)). DNA extraction was performed using the **GenoLyse**[®] kit. Subsequently, the culture samples were tested with the **GenoType MTBDRsl** applying the "MDR CUL" PCR protocol.

All *M. tuberculosis* complex samples showed the same correct results. Hence, it can be excluded that the tested media import inhibitors into the **GenoType MTBDRsl**.

Interfering substances may also be carried over from the sample material. Hence, the substances indicated in table 10 were tested in order to assess a potential interference with the **GenoType MTBDRsl**. Defined BCG culture dilutions above, at, and below the detection limit of clinical samples were spiked with various amounts of the potential inhibitors. From all samples, DNA extraction was performed using the **GenoLyse**[®] kit. Then the culture dilutions were tested with the **GenoType MTBDRsl** applying the "MDR DIR" protocol for PCR.

Table 10: Tested potential interferents of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0

Substance/class	Description/active ingredient	Substance concentrations
Blood	Whole blood	2.5% v/v to 90% v/v
Blood	Hemoglobin	0.05% v/v to 13.5% v/v
Pus		0.5% v/v to 90% v/v

Interference of the **GenoType MTBDRsl** VER 2.0 (invalid test result) was observed in samples containing concentrations greater than 10% whole blood, 1% hemoglobin, and 2.5% pus.

Stability

Shelf life of the test kit when stored as recommended: see box label.

Stability is determined according to DIN EN ISO 23640.

References

- World Health Organization. Global tuberculosis report 2015. WHO/HTM/TB/2015.22. World Health Organization, Geneva, Switzerland 2015.
- Zhang Y, Yew WW. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13: 1320-1330.
- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th edition. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA 2009.
- Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards), USA, Document M29 (please refer to the latest version).
- Kent PT, Kubica GP. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA 1985.
- Isenberg HD. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA 1992.
- Richter E, Beer J, Diel R, Hillemann D, Hoffmann H, Klotz M, Mauch H, Rüscher-Gerdes S. MiQ 5, Tuberkulose, Mykobakteriose. In: Podbielski A, Herrmann M, Kniehl E, Mauch H, Rüssmann H (eds): Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards. Elsevier, Munich, Germany 2010.
- DIN, Deutsches Institut für Normung e.V. (ed). DIN 58943-4:2009-02: Medical microbiology - Diagnosis of tuberculosis - Part 4: Primary samples for the diagnosis of tuberculosis and mycobacteria – Qualitative and quantitative requirements, extraction, transport and storage. Beuth, Berlin, Germany 2009.
- Cheng AF, Yew WW, Chan EW, Chin ML, Hui MM, Chan RC. Multiplex PCR amplicon conformation analysis for rapid detection of *gyrA* mutations in fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 596-601.
- Aubry A, Veziris N, Cambau E, Truffot-Pernot C, Jarlier V, Fisher LM. Novel gyrase mutations in quinolone-resistant and -hypersusceptible clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: functional analysis of mutant enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 104-112.
- Matrat S, Veziris N, Mayer C, Jarlier V, Truffot-Pernot C, Camuset J, Bouvet E, Cambau E, Aubry A. Functional analysis of DNA gyrase mutant enzymes carrying mutations at position 88 in the A subunit found in clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* resistant to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 4170-4173.
- Kocagöz T, Hackbarth CJ, Unsal I, Rosenberg EY, Nikaido H, Chambers HF. Gyrase mutations in laboratory-selected, fluoroquinolone-resistant mutants of *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 1768-1774.
- Malik S, Willby M, Sikes D, Tsodikov OV, Posey JE. New insights into fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: functional genetic analysis of *gyrA* and *gyrB* mutations. *PLoS One* 2012; 7: e39754. doi: 10.1371/journal.pone.0039754.
- Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, Gordon SV, Eiglmeier K, Gas S, Barry CE 3rd, Tekaia F, Badcock K, Basham D, Brown D, Chillingworth T, Connor R, Davies R, Devlin K, Feltwell T, Gentles S, Hamlin N, Holroyd S, Hornsby T, Jagels K, Krogh A, McLean J, Moule S, Murphy L, Oliver K, Osborne J, Quail MA, Rajandream MA, Rogers J, Rutter S, Seeger K, Skelton J, Squares R, Squares S, Sulston JE, Taylor K, Whitehead S, Barrell BG. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 1998; 393: 537-44. Erratum in: *Nature* 1998; 396: 190.
- Maus CE, Plikaytis BB, Shinnick TM. Mutation of *tlyA* confers capreomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 571-577.
- Maus CE, Plikaytis BB, Shinnick TM. Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3192-3197.
- Georghiou SB, Magana M, Garfein RS, Catanzaro DG, Catanzaro A, Rodwell TC. Evaluation of genetic mutations associated with *Mycobacterium tuberculosis* resistance to amikacin, kanamycin and capreomycin: a systematic review. *PLoS One* 2012; 7: e33275. doi: 10.1371/journal.pone.0033275.
- Campbell PJ, Morlock GP, Sikes RD, Dalton TL, Metchock B, Starks AM, Hooks DP, Cowan LS, Plikaytis BB, Posey JE. Molecular detection of mutations associated with first- and second-line drug resistance compared with conventional drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 2032-2041.
- Chakravorty S, Lee JS, Cho EJ, Roh SS, Smith LE, Lee J, Kim CT, Via LE, Cho SN, Barry CE 3rd, Alland D. Genotypic susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates for amikacin and kanamycin resistance by use of a rapid sloppy molecular beacon-based assay identifies more cases of low-level drug resistance than phenotypic Lowenstein-Jensen testing. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 43-51.
- Zaunbrecher MA, Sikes RD Jr, Metchock B, Shinnick TM, Posey JE. Overexpression of the chromosomally encoded aminoglycoside acetyltransferase *eis* confers kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 20004-20009.
- Tagliani E, Cabibbe AM, Miotto P, Borroni E, Toro JC, Mansjö M, Hoffner S, Hillemann D, Zalutskaya A, Skrahina A, Cirillo DM. Diagnostic performance of the new version (v2.0) of GenoType MTBDRsl assay for detection of resistance to fluoroquinolones and second-line injectable drugs: a multicenter study. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 2961-2969.

Important Changes in IFU-317A-04

Chapter	Change
Reagents and Instruments	Three lot labels are included in the kit. New: "Conjugate Concentrate (CON-C) and Conjugate Buffer (CON-D) contain biological material. Hence, they must be considered as potentially infectious and must be handled accordingly."
Quality Control	New: "You can find the kit lot and the corresponding lots of the kit constituents on the lot labels included in the kit."
Limitations	New: "The test only works within the limits of the genomic regions the primers and probes were chosen from." New: "Please note that effects due to multiple mutations outside the investigated sequences cannot be detected by this test." New: "As any detection system based on hybridization, the test system on hand bears the possibility that sequence variations in the genomic regions the primers and probes were chosen from but the detection of which the test was not designed for may lead to false results. Due to the high variability of bacterial genomes, it is possible that certain subtypes might not be detected."



Hain Lifescience GmbH

Hardwiesenstraße 1, 72147 Nehren, Germany
www.hain-lifescience.de, +49 (0) 74 73- 94 51- 0



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Hoja Adicional de Firmas
Informe gráfico

Número:

Referencia: Rótulos e Ifus EX-2021-06044869- -APN-DGA#ANMAT

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

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.02.11 14:53:52 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.02.11 14:53:52 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: EX-2021-06044869-APN-DGA#ANMAT

↓

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN

PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO

Nº EX-2021-06044869-APN-DGA#ANMAT

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

NOMBRE COMERCIAL: GenoType MTBDRs1 VER 2.0

INDICACION DE USO: El kit GenoType MTBDRs/VER 2.0 es un ensayo cualitativo in vitro, para la identificación genética del complejo Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a fluoroquinolonas (FLQ; p.ej. ofloxacino y moxifloxacino) y aminoglicósidos/péptidos cíclicos (AG/CP; antibióticos inyectables como kanamicina, amikacina, capreomicina y viomicina) a partir de muestras de esputo baciloscopia negativa o positiva, y muestras de cultivo. Las siguientes especies están incluidas en la tuberculosis causada por el complejo M. tubercu/osis. M. tuberculosis, M africanum, M. bovis subsp. bovis, M. bovis subsp. caprae, M. bovis BCG, M. microti, M canettii y M. pinnipedii. La detección de la resistencia a fluoroquinolonas (FLQ) está activada por la detección de las principales mutaciones asociadas a resistencia de los genes gyrA y gyrB (que codifica la subunidad A y la subunidad B de la DNA girasa, respectivamente). Para la detección de resistencia a aminoglicósidos/péptidos cíclicos se examina el gen 16S rRNA (rrs), para la detección de resistencia de bajo nivel a la kanamicina, se examina la región promotora del gen eis (que codifica la acetiltransferasa Eis). El ensayo está indicado como soporte al diagnóstico y previsto para uso en laboratorios médicos.

FORMA DE PRESENTACIÓN: El producto es provisto en dos kits separados debido a su diferente temperatura de conservación. Existe presentación para 12 determinaciones (código del producto: 317A) y para 96 determinaciones (código del producto: 31796A). En la siguiente tabla se detalla la composición de cada presentación:

Código n° 317A Test 12

Código n° 31796A Test 96

Componente del Kit 1 de 2 (almacene entre 2°C y 8° C):

Tiras de membranas recubiertas con sondas específicas

(MTBDRs1 VER 2.0 STRIPS)	12	2x 48
--------------------------	----	-------

Solución de Desnaturalización (DEN)

contiene <2% NaOH, colorante	240 pl	2x 960 pl
------------------------------	--------	-----------

Tampón de Hibridación (HYB)

contiene surfactante aniónico al < 10%, colorante 12 ml		96 ml
---	--	-------

Solución de Lavado Astringente (STR)

contiene compuesto cuaternario de amonio al >25%,

surfactante aniónico al < 1%, colorante	12 ml	96 ml
---	-------	-------

Solución de Aclarado (RIN) contiene tampón, < 1% NaCl, surfactante no iónico al < 1% 36 ml 3x 96 ml

Conjugado Concentrado (CON-C) contiene fosfatasa alcalina conjugada con streptavidina, colorante 120 960 vi

Tampón del Conjugado (CON-D) contiene tampón, reactivo de bloqueo al 1%, < 1% NaCl 12 ml 96 ml

Sustrato Concentrado (SUB-C) contiene dimetilsulfóxido, < 10% 4-nitroazul de tetrazolio (NBT).

< 10% 5-bromo-4-cloro-3-indolilo fosfato	120 pl	960 HI
--	--------	--------

Tampón del Sustrato (SUB-D) contiene tampón, < 1% MgCl₂, < 1% NaCl 12 ml 96 ml

Bandeja, hoja de evaluación	1 de cada	4 de cada
-----------------------------	-----------	-----------

Instrucciones de uso, plantilla	1 de cada	1 de cada
---------------------------------	-----------	-----------

Etiqueta de los lotes	3	3
-----------------------	---	---

Componente del Kit 2 de 2 (almacene entre -20 °C y -18°C)

Mezcla de Amplificación A (AM-A GT MTBDRs1 VER 2.0) contiene tampón, nucleótidos, Taq polimerasa 120

4x 240 pl

Mezcla de Amplificación B (AM-B GT MTBDRs1 VER 2.0)

contiene sales, primers específicos, colorante

420

4x 840 pl

PERÍODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE PRESENTACIÓN: 18 meses. Componente del Kit 1 de 2 (almacene entre 2°C y 8° C) y Componente del Kit 2 de 2 (almacene entre -20 °C y -18°C)

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: Hain Lifescience GmbH, Hardwiesenstr 1. 72147 Nehren. Alemania.

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: Venta exclusiva a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM N°-1252-163 -. -----

N° EX-2021-06044869-APN-DGA#ANMAT

AM