



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

DISPOSICIÓN N° 5328

BUENOS AIRES 13 MAY 2016

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-3448/15-9 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma BIOSYSTEMS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado CMV ELITE MGB KIT/ prueba cualitativa y cuantitativa de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del ADN del Citomegalovirus humano (CMV) en muestras de ADN extraído de sangre entera recolectada con EDTA, plasma extraído con EDTA, líquido cefalorraquídeo, orina.

Que a fs. 185 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

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

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

Que se actúa en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y por el Decreto N° 101/15 de fecha 16 de diciembre de 2015.



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

DISPOSICIÓN N° 5328

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTICULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado CMV ELITE MGB KIT/ prueba cualitativa y cuantitativa de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del ADN del Citomegalovirus humano (CMV) en muestras de ADN extraído de sangre entera recolectada con EDTA, plasma extraído con EDTA, líquido cefalorraquídeo, orina que será elaborado por Elitech Group S.p.A., Italia e importado por BIOSYSTEMS S.A. a expendirse en envases conteniendo VER ANEXO I ;cuya composición se detalla a fojas 6 y 7 con un período de vida útil de 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración , conservado a -20 °C.

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 39 a 101, 138 a 146 y 167 a 184, desglosándose las fojas 77 a 97, 138 a 140, 167 a 170 y 183 a 184 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA, se reserva el derecho de reexaminar los



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

DISPOSICIÓN N° **5 3 2 8**

métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTICULO 5º.- Regístrese; gírese a Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el Certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

Expediente nº: 1-47-3110-3448/15-9.

DISPOSICIÓN N°:

av.

5 3 2 8

Dr. ROBERTO LEDE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.



ANEXO I

Expediente N° 1-47-3110-3448/15-9

PRODUCTO:

CMV ELITE MGB KIT/ prueba cualitativa y cuantitativa de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del ADN del Citomegalovirus humano (CMV) en muestras de ADN extraído de sangre entera recolectada con EDTA, plasma extraído con EDTA, líquido cefalorraquídeo, orina.

PRESENTACION: Para 100 determinaciones.

Componentes del kit CMV Q-PCR MIX, Código RTS015 PLD

Componente	Descripción	Cantidad
CMV Q-PCR Mix	Mezcla completa de reacción	4x 540µl

Componentes del kit completo: CMV Q-PCR standard, código STD015 PLD

Componente	Descripción	Cantidad
CMV Q- PCR Standard 10 ⁵	Solución de plásmido en probeta con tapón rojo	1x 200µl
CMV Q- PCR Standard 10 ⁴	Solución de plásmido en probeta con tapón azul	1x 200µl
CMV Q- PCR Standard 10 ³	Solución de plásmido en probeta con tapón verde	1x 200µl
CMV Q- PCR Standard 10 ²	Solución de plásmido en probeta con tapón amarillo	1x 200µl

[Handwritten signature]

Componentes del kit completo CPE- Internal Control, código CTCPE

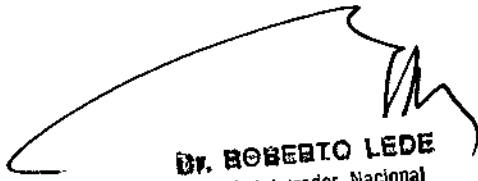
Componente	Descripción	Cantidad
CPE	Solución de plásmido para el control interno de inhibición	4 x 160µl

Expediente nº: 1-47-3110-3448/15-9.

DISPOSICIÓN Nº:

5 3 2 8

av.


Dr. ROBERTO LEDE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

Lic. Alejandro Diez
Apoyado por
Biosystems S.A.



ELITE
MGB®

ELITechGroup
MOLECULAR DIAGNOSTICS

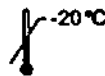
ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY
Oficinas: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
sitio WEB: www.elitechgroup.com

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo para Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD



0344



INDICE

USO PREVISTO
 PRINCIPIO DE LA PRUEBA
 PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO
 MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO
 MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO
 OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS
 MUESTRAS Y CONTROLES
 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES
 PROCEDIMIENTO
 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
 CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES
 BIBLIOGRAFÍA
 PROBLEMAS Y SOLUCIONES
 SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS
 AVISO AL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

pág. 1
 pág. 2
 pág. 3
 pág. 3
 pág. 3
 pág. 4
 pág. 4
 pág. 8
 pág. 9
 pág. 19
 pág. 20
 pág. 32
 pág. 33
 pág. 34
 pág. 35

USO PREVISTO

El producto «CMV ELITE MGB® Kit» es una prueba cualitativa y cuantitativa de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del ADN del Citomegalovirus humano (CMV) en muestras de ADN extraído de sangre entera recolectada con EDTA, plasma extraído con EDTA, líquido cefalorraquídeo, orina.

El producto se utiliza para el diagnóstico y el monitoreo de la infección por CMV, junto con los datos clínicos del paciente y con los resultados de otros exámenes de laboratorio.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

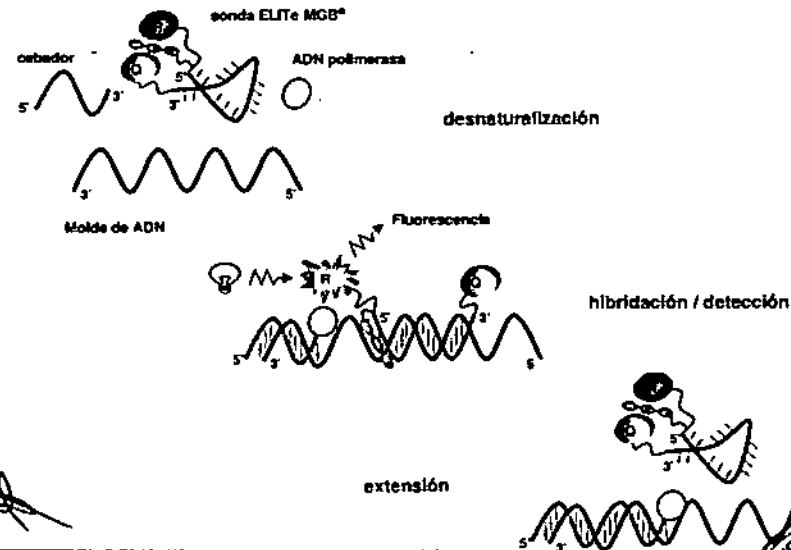
La prueba prevé la realización de una reacción de amplificación real time en microplaca con un termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia (thermal cycler para amplificación real time).

En cada pocillo se realizan dos reacciones de amplificación: una específica para una región del exon 4 del gen MIEA de CMV (major immediate early antigen, HCMVUL123) y una específica para la región del gen humano que codifica la beta globina (Control Interno de Inhibición) utilizando el DNA extraído de las muestras en examen. La sonda con tecnología ELITE MGB® específica para CMV, marcada con el fluoróforo FAM, se activa cuando hibrida con el producto específico de la reacción de amplificación para CMV. La sonda con tecnología ELITE MGB® específica para el Control Interno, marcada con el fluoróforo AP525 (equivalente a VIC), se activa cuando hibrida con el producto de la reacción de amplificación para el Control Interno. La emisión de la fluorescencia aumenta con el aumento de los productos específicos de la reacción de amplificación y es medida y registrada por el aparato. La elaboración de los datos permite detectar la presencia y el título del ADN de CMV en la muestra de partida.

Cuando finaliza una sesión, se puede analizar la curva de disociación (melting curve) y determinar la temperatura de disociación (melting temperature) para confirmar la presencia del target correcto o identificar la presencia de mutaciones.

La evaluación de la prueba ha sido realizada con equipos 7300 Real Time PCR System y 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument.

En la siguiente figura se resume el mecanismo de activación y emisión de la fluorescencia de la sonda con tecnología ELITE MGB®. Notar que la sonda no se hidroliza durante el ciclo de amplificación y, por lo tanto podrá, ser utilizada para realizar la curva de disociación.



3328
13 MAY 2016



«ELITE MGB®» y el logotipo «ELITE MGB®» están registrados como marcas comerciales en la Unión Europea.

DR. SIMONA ZANELLA
 DIRETTORE TECNICA
 11/01/2016
 MAN 14.421
 BIOSYSTEMS S.A.

Lic. Alejandro Diez
Apoderado
BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

El kit completo «CMV ELITE MGB® Kit» provee los siguientes componentes.

CMV Q - PCR Mix

Una mezcla de reacción completa y lista para usar «CMV Q - PCR Mix» para la amplificación real time en una solución estabilizadora, previamente dosificada en cuatro probetas. Cada probeta contiene 540 µL de solución, suficiente para 25 tests.

Los oligonucleótidos cebadores y la sonda para CMV (estabilizada por el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo FAM e inactivada por el quencher no fluorescente) son específicos para una región del exon 4 del gen MIEA de CMV (major immediate early antigen, HCMVUL123).

Los oligonucleótidos cebadores y la sonda para el Control Interno (estabilizada por el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo APS25, equivalente a VIC, e inactivada por el quencher no fluorescente) son específicos para la región promotora y 5' UTR del gen humano que codifica la beta Globina.

La mezcla de reacción provee el sistema tampón, el cloruro de magnesio, los nucleótidos trifosfatos, el fluoróforo APS93 (usado en el lugar del ROX o del Cy5 como referencia pasiva para la normalización de la fluorescencia), la enzima Uracil-N-glicosidasa (UNG) para la inactivación de las contaminaciones por productos de amplificación y la enzima ADN polimerasa Platinum® Tfi exo- de activación térmica (hot start).

CMV Q - PCR Standard

Cuatro soluciones estabilizadas con título conocido de plásmido, cada una dosificada en una probeta y listas para su uso. Cada probeta contiene 200 µL de solución, suficiente para 8 sesiones.

El plásmido contiene la región amplificada del exon 4 del gen MIEA de CMV. La detección del ADN blanco de la reacción de amplificación real time confirma la capacidad del producto para detectar la presencia del ADN de CMV y permite calcular la curva estándar.

La concentración del Q - PCR Standard se ha establecido utilizando materiales de referencia calibrados (QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Onostics Ltd, Escocia, Reino Unido, y OptiQuant CMV DNA, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos). Un Factor de conversión permite expresar los resultados cuantitativos en las Unidades Internacionales de CMV del "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC, Reino Unido, código 09/162).

CPE

Una solución estabilizada de plásmido que contiene dos ADN plasmídicos y ARN genómico de fago MS2, dosificada en cuatro probetas y lista para usar. Cada probeta contiene 160 µL de solución.

El producto CPE es utilizado como Control Interno para la extracción de ADN y ARN de muestras biológicas celulares y no celulares.

En caso de extracción de ADN de muestras que contienen solo trazas de ADN genómico humano, 10 µL de este control interno deben agregarse al reactivo de extracción durante el procedimiento de extracción para suministrar el blanco del Control Interno.

El producto permite efectuar 100 determinaciones, estándar y controles incluidos.

DR. SILVANA ZANELA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Componentes del kit completo: CMV Q - PCR Mix, código RTS015PLD

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de los peligros
CMV Q-PCR Mix	mezcla completa de reacción	4 x 540 µL	-

Componentes del kit completo: CMV Q - PCR Standard, código STD015PLD

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación y etiquetado
CMV Q - PCR Standard 10 ⁵	solución de plásmido en probeta con tapón ROJO	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 ⁴	solución de plásmido en probeta con tapón AZUL	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 ³	solución de plásmido en probeta con tapón VERDE	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 ²	solución de plásmido en probeta con tapón AMARILLO	1 x 200 µL	-

Componentes del kit completo CPE - Internal Control, código CTRCPE

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación y etiquetado
CPE	solución de plásmido para el control interno de inhibición	4 x 160 µL	-

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de látex o similares.
- Mezclador vortex.
- Microcentrífuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y tips estériles con filtro para aerosol o de dispensación positiva (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Agua bidestilada estéril.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia 7300 Real Time PCR System o 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument calibrado según las indicaciones del fabricante.

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

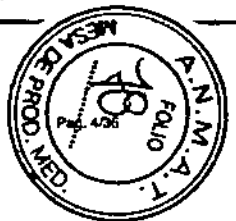
Los reactivos para la extracción del ADN de las muestras a analizar no están incluidos en este producto.

Para la extracción manual del ADN de las muestras a analizar, se aconseja utilizar el producto genérico «EXTRAblood» (ELITechGroup S.p.A., código EXTB01), kit para la extracción de ADN a partir de muestras celulares y no celulares.

Para la extracción automática del ADN de las muestras a analizar, se aconseja utilizar el producto genérico «ELITE STAR 200 Extraction Kit» (ELITechGroup S.p.A., código INT011EX), kit de extracción de los ácidos nucleicos de muestras biológicas, con el instrumento «ELITE STAR» (ELITechGroup S.p.A., código INT010).

«ELITE STAR 200 Extraction Kit» y «ELITE STAR» constituyen ELITE STAR System.

5328



Lic. Alejandro Diez
Biosystems S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Para la extracción automática del ADN de las muestras a analizar, se aconseja utilizar el producto genérico «ELITE GALAXY 300 Extraction Kit» (ELITechGroup S.p.A., código INT021EX), kit de extracción de los ácidos nucleicos de muestras biológicas, con el instrumento «ELITE GALAXY» (ELITechGroup S.p.A., código INT020).

«ELITE GALAXY 300 Extraction Kit» y «ELITE GALAXY» constituyen ELITE GALAXY System.

Para la extracción automática del ADN de las muestras a analizar, también se aconseja utilizar el producto genérico «NucliSENS® easyMAG® Reagents» (bioMérieux SA, códigos 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135), kit de extracción de los ácidos nucleicos de muestras biológicas, con el instrumento «NucliSENS® easyMAG®» (bioMérieux SA, código 200111).

Para la extracción automática del ADN de las muestras a analizar, se aconseja también el empleo del producto «QIASymphony® DNA Mini Kit» (QIAGEN GmbH, código 931236), kit de extracción de los ácidos nucleicos de muestras biológicas, con el equipo «QIASymphony® SP/AS» (códigos 9001297, 9001301) y los relativos productos genéricos.

En caso que sea previsto el uso de un equipo 7300 Real-Time PCR System, se aconseja utilizar el producto genérico «Q - PCR Microplates» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC01) microplacas con pocillos de 0,2 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time.

En caso que sea previsto el uso de un equipo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, se aconseja utilizar el producto genérico «Q - PCR Microplates Fast» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC02) microplacas con pocillos de 0,1 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time.

En caso que sea necesario utilizar otras alícuotas de "Q CMV - PCR estándar", estos estándares de ADN son disponibles en el producto «CMV ELITE Standard» (ELITechGroup S.p.A., código STD015PLD), cuatro diluciones de ADN plasmídico en cantidad conocida para obtener la curva estándar.

MUESTRAS Y CONTROLES

Muestras

Este producto debe ser utilizado con **ADN extraído** de las siguientes muestras clínicas:

Sangre entera recolectada con EDTA

Las muestras de sangre entera destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectadas con EDTA según las indicaciones del laboratorio, transportadas a +2° / +8 C° y conservadas a +2° / +8 C° por un máximo de tres días, de lo contrario deben ser congeladas y conservadas a -20 C° por un máximo de treinta días o bien a -70C° por tiempos más prolongados. Se aconseja subdividir en diferentes alícuotas las muestras que deben conservarse congeladas para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación. Cuando se utilizan muestras congeladas, para evitar la posible degradación de los ácidos nucleicos descongelarlas inmediatamente antes de la extracción.

Nota: cuando se realiza la extracción del ADN de sangre entera (muestra celular) con el kit «EXTRAblood» se deben respetar las indicaciones del Manual de instrucciones de uso: partir con 200 µL de muestra, recuperar el ADN con 100 µL de tampón de elución.

Nota: cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de sangre entera usando ELITE GALAXY System, con versión de software 1.3.1 (o versiones posteriores equivalentes), utilizar el protocolo de extracción xNA Extraction (Universal), que emplea 300 µL de muestra y eluye el producto de la extracción en 200 µL (la elución se realiza en 210 µL efectivos, de los cuales se recuperan 200 µL). Las muestras en las probetas primarias pueden cargarse directamente en «ELITE GALAXY». Es necesario siempre para cada muestra un volumen mínimo de 400-650 µL según la clase de tubo utilizado. Agregar 10 µL / muestra de CPE. (Al CPE debe agregarse el IC + Carrier solution, como se indica en el manual del kit de extracción). Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

Dra. SIMONAZANELA
DIRECCIÓN TÉCNICA
MN 14 421
BIOSYSTEMS S.A.

Nota: Cuando se ejecuta la extracción del ADN de muestras de sangre entera con el equipo «NucliSENS® easyMAG®» utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** y respetar las siguientes indicaciones: distribuir 100 µL de la muestra en la Strip de 8 pocillos; cargar la Strip en el equipo e iniciar la extracción sin incubación para la lisis; después que el equipo ha agregado el **EasyMAG® Lysis Buffer**, mezclar (directamente en el equipo) tres veces el contenido de la Strip con la pipeta multicanal suministrada usando el programa 3; dejar en incubación por 10 minutos y luego agregar la **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** al contenido de la Strip con la pipeta multicanal usando el programa 3, continuar con la extracción y recuperar el ADN con 50 µL de tampón de elución.

Nota: cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de sangre entera usando el instrumento «QIASymphony® SP/AS» y el kit «QIASymphony® DNA Mini Kit», con versión de software 3.5, utilizar el protocolo de extracción «Virus Blood_200_V4_default IC» y seguir estas indicaciones: el instrumento tiene la capacidad de utilizar directamente el tubo primario, el volumen de muestra retirado para la extracción es de 200 µL, se requiere siempre un volumen muerto mínimo de 100 µL. Cargar en el equipo, en la posición prevista para las probetas "control interno" las probetas que contienen buffer ATE, como se indica en el Manual de instrucciones de uso del kit; indicar la posición en la cual se distribuirán los eluatos y especificar el volumen de elución de 60 µL (la elución se realiza en 90 µL efectivos, de los cuales se recuperan 60 µL). Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

Plasma extraído con EDTA

Las muestras de plasma destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectadas con EDTA según las indicaciones del laboratorio, transportadas a +2° / +8 C° y conservadas a +2° / +8 C° por un máximo de tres días, de lo contrario deben ser congeladas y conservadas a -20 C° por un máximo de treinta días o bien a -70 C° por tiempos más prolongados.

Se aconseja subdividir en varias alícuotas las muestras que se deben conservar congeladas, para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación.

Cuando se utilizan muestras congeladas, descongelarlas inmediatamente antes de la extracción para evitar la posible degradación de los ácidos nucleicos.

Nota: cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de plasma usando ELITE STAR System, con versión de software 3.4.13 (o versiones posteriores equivalentes), utilizar el protocolo de extracción «UUNI_E100_S200_ELI», que emplea 200 µL de muestra y eluye el producto de la extracción en 100 µL (la elución se realiza en 115 µL efectivos, de los cuales se recuperan 100 µL). Las muestras en las probetas primarias pueden cargarse directamente en el «ELITE STAR». Es necesario siempre un volumen mínimo de 400-600 µL para cada muestra según la clase de tubo utilizado. Agregar 200 µL de CPE en los tubos de Proteinase-Carrier, como se indica en el manual del kit de extracción. Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

Nota: cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de plasma usando ELITE GALAXY System, con versión de software 1.3.1 (o versiones posteriores equivalentes), utilizar el protocolo de extracción xNA Extraction (Universal), que emplea 300 µL de muestra y eluye el producto de la extracción en 200 µL (la elución se realiza en 210 µL efectivos, de los cuales se recuperan 200 µL). Las muestras en las probetas primarias pueden cargarse directamente en el «ELITE GALAXY». Para cada muestra es necesario siempre un volumen mínimo de 400-650 µL según la clase de tubo utilizado. Agregar 10 µL / muestra de CPE. (Al CPE debe agregarse el IC + Carrier solution, como se indica en el manual del kit de extracción). Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

Nota: cuando se realiza la extracción de ADN de muestras de plasma usando el instrumento «QIASymphony® SP/AS» y el kit «QIASymphony® DSP Virus / Pathogen Midi kit», con versión de software 3.5, utilizar el protocolo de extracción «Virus Cell free 500_V3_DSP_default IC» y seguir estas indicaciones: el instrumento tiene la capacidad de utilizar directamente el tubo primario, el volumen de muestra retirado para la extracción es de 500 µL, siempre se requiere un volumen muerto mínimo de 100 µL. Preparar la solución que contiene el buffer AVE y el carrier ARN según las instrucciones del Manual de uso del kit de extracción. Agregar a la solución 6 µL de CPE para cada muestra requerida. Cargar en el instrumento, en la posición prevista para las probetas "control interno", las probetas que contienen la solución, como se indica en el Manual de instrucciones de uso del kit; indicar la posición en la cual se distribuirán los eluatos y especificar el volumen de elución de 85 µL (la elución se realiza en 115 µL efectivos, de los cuales se recuperan 85 µL). Para conocer detalles sobre el procedimiento de extracción, seguir atentamente las indicaciones del Manual de instrucciones de uso del kit.

5328



CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Líquido cefalorraquídeo

Las muestras de líquido cefalorraquídeo destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectadas según las indicaciones del laboratorio evitando la contaminación con la sangre del paciente, transportadas a +2° / +8 C° y conservadas a +2° / +8 C° por un máximo de cuatro horas, de lo contrario deben congelarse y conservarse a -20 C° por un máximo de treinta días o bien a -70 C° por tiempos más prolongados.

Se aconseja dividir en diferentes alícuotas las muestras para conservarlas congeladas y no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación.

Nota: Cuando se ejecuta la extracción del ADN a partir de muestras de líquido cefalorraquídeo con el equipo «NucliSENS® easyMAG®», utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** y respetar las siguientes indicaciones: distribuir **500 µL** de la muestra en la Strip de 8 pocillos; cargar la Strip en el equipo e iniciar la extracción. Después de los 10 minutos de incubación agregar **5 µL** de CPE para el control interno antes de agregar la **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** al contenido de la Strip con la pipeta multicanal usando el programa 3; continuar con la extracción y recuperar el ADN con **100 µL** de tampón de elución.

Orina

Las muestras de orina destinadas a la extracción de ácidos nucleicos deben ser recolectadas en recipientes sin conservantes según las indicaciones del laboratorio, transportadas a temperatura ambiente (+18 / +25 °C) y conservadas a temperatura ambiente (+18 / +25 °C) por un máximo de cuatro horas, de lo contrario, deben conservarse a +2 / +8 °C por un máximo de tres días. Si es posible, evitar congelar las muestras de orina de primer chorro. La congelación puede ocasionar la precipitación de inhibidores y la pérdida de título del ADN.

En caso de congelación, se aconseja subdividir en diferentes alícuotas las muestras para no someterlas a repetidos ciclos de congelación / descongelación y conservarlas a temperatura inferior a -20 C° por un máximo de treinta días o bien a -70 C° por tiempos más prolongados.

Nota: Cuando se lleva a cabo la extracción del ADN a partir de muestras de orina con el instrumento «NucliSENS® easyMAG®», utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** seguir estas indicaciones: distribuir **500 µL** de muestra en la Strip de 8 pocillos, cargar la Strip en el instrumento y comenzar con la extracción; al concluir los 10 minutos de incubación, agregar **5 µL** de CPE para el control interno antes de agregar el **NucliSENS® EasyMAG® Magnetic Silica** al contenido de la Strip con la pipeta multicanal y el programa 3; continuar con la extracción y recuperar el ADN con **100 µL** de tampón de elución.

Sustancias interferentes

El ADN extraído de la muestra de partida no debe contener heparina, hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol o 2-propanol para evitar fenómenos de inhibición y la aparición de frecuentes resultados no válidos.

Cantidades elevadas de ADN genómico humano en el ADN extraído de la muestra pueden inhibir la reacción de amplificación.

No son disponibles datos referidos a eventuales fenómenos de inhibición por parte de fármacos antibióticos, antivirales, quimioterápicos o inmunosupresores.

Controles de amplificación

Es absolutamente necesario convalidar cada una de las sesiones de amplificación preparando una reacción de control negativo y una reacción de control positivo.

Para el control negativo utilizar agua bidestilada estéril (no provista en el producto).

Para el control positivo utilizar los componentes **CMV Q-PCR Standard**.

Controles de calidad

Se aconseja confirmar todo el procedimiento de análisis de cada una de las sesiones, extracción y amplificación, utilizando una muestra negativa y una muestra positiva ya testadas o del material de referencia calibrado.

Handwritten signature

CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo *in vitro*.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudiesen transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No producir salpicaduras ni aerosol. El material que está en contacto con las muestras biológicas debe ser tratado con hipoclorito de sodio al 3 % por al menos 30 minutos o bien, tratado en autoclave a 121 C° durante una hora antes de ser eliminado.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales utilizados para realizar la prueba como si fuesen potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No producir salpicaduras ni aerosol. Los residuos deben ser tratados y eliminados según normas de seguridad adecuadas. El material combustible monouso debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben ser neutralizados antes de la eliminación.

Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos / la cara.

No pipetear con la boca ninguna solución.

No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.

Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.

Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.

Leer atentamente todas las instrucciones provistas en el producto antes de realizar la prueba.

Respetar las instrucciones provistas en el producto durante la ejecución de la prueba.

Respetar la fecha de caducidad del producto.

Utilizar sólo los reactivos presentes en el producto y los aconsejados por el fabricante.

No usar reactivos que provengan de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, requieren personal competente e instruido para evitar el riesgo de resultados incorrectos, en particular a causa de la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o de la contaminación de las mismas por parte de productos de amplificación.

Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación o para la amplificación / detección de los productos de amplificación. Nunca introducir un producto de amplificación en el área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos destinados para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de productos de amplificación. Nunca transferir batas, guantes e instrumentos del área de amplificación / detección de productos de amplificación al área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben ser destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las probetas que contengan muestras diferentes nunca deben ser abiertas al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosol. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los productos de amplificación deben ser manipulados en modo de limitar al máximo su dispersión en el ambiente para evitar contaminaciones. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben ser destinadas sólo a este uso.

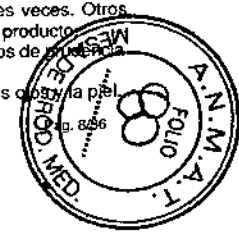
Advertencias y precauciones específicas para los componentes

La **CMV Q - PCR Mix** debe ser conservada en lugar oscuro a -20° C.

La **CMV Q - PCR Mix** puede ser congelado y descongelado por un máximo de tres veces. Otros ciclos de congelación / descongelación pueden provocar una pérdida de las prestaciones del producto.

La **CMV Q - PCR Mix** no presenta frases de riesgo (R) y presenta los siguientes consejos de precaución (S):

S 23-24/25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos/la piel.



Lic. Alejandro Diez
 Responsable
 Biosystems S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

El CMV Q - PCR Standard puede ser congelado y descongelado por un máximo de ocho veces. Otros ciclos de congelación / descongelación pueden provocar una pérdida de las prestaciones del producto.

El CMV Q - PCR Standard no presenta frases de riesgo (R) y presenta los siguientes consejos de prudencia (S):

S 23-25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos.

El CPE puede ser congelado y descongelado por un máximo de doce veces. Otros ciclos de congelación / descongelación pueden provocar una pérdida de las prestaciones del producto.

El CPE no presenta frases de riesgo (R) y presenta los siguientes consejos de prudencia (S):

S 23-25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos.

PROCEDIMIENTO

Programación de la sesión de amplificación real time
 (A realizarse en el área de amplificación / visualización de los productos de amplificación)

Si se utiliza un equipo 7300 Real-Time PCR System:

Antes de iniciar la sesión, tomando como referencia la documentación del equipo, es necesario:

- encender el thermal cycler para real time, encender el computador de control, iniciar el software destinado y abrir una sesión "absolute quantification";
- programar (Detector Manager) el "detector" para la sonda para CMV con el "reporter" = "FAM" y el "quencher" = "none" (no fluorescente) y denominarlo "CMV";
- programar (Detector Manager) el "detector" para la sonda de control interno con el "reporter" = "VIC" (AP525 equivalente al VIC) y el "quencher" = "none" (no fluorescente) y denominarlo "CI";
- para cada pocillo en uso de la microplaca, programar (Well Inspector) los "detector" (tipo de fluorescencia a medir), el "passive reference" = "ROX" (se usa AP593 en lugar del ROX, normalización de la fluorescencia medida) normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, control negativo de amplificación, control positivo de amplificación o estándar con la correspondiente cantidad conocida). Completar el Plan de trabajo adjunto al final de este manual de instrucciones de uso transcribiendo estas informaciones o bien imprimir la organización de la microplaca. El Plan de trabajo deberá seguirse con atención durante la transferencia de la mezcla de reacción y de las muestras a los pocillos.

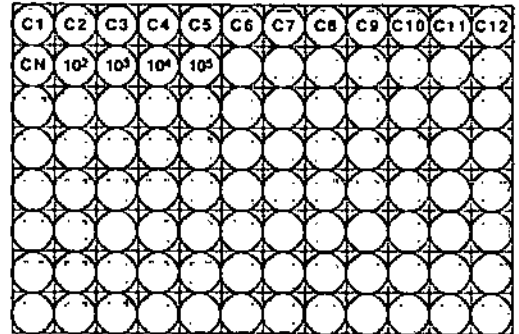
Nota: para la determinación del título del ADN en la muestra de partida es necesario preparar una serie de reacciones con los Q - PCR Standard (10⁵ copias, 10⁴ copias, 10³ copias, 10² copias) para obtener la Curva estándar.

DR. SILVIA ZANELLA
 DIRECTORA TÉCNICA
 MN 14.421
 BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Se ilustra a continuación, a modo de ejemplo, cómo puede organizarse el análisis cuantitativo de 12 muestras.



Leyenda: C1 - C12: Muestras a analizar; CN: Control negativo de amplificación; 10²: Estándar 10² copias; 10³: Estándar 10³ copias; 10⁴: Estándar 10⁴ copias; 10⁵: Estándar 10⁵ copias.

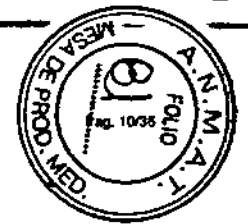
Con referencia a la documentación del instrumento, programar en el software específico (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile), los parámetros del ciclo térmico:
 - agregar, en la fase de amplificación, el paso (Add Step) de extensión a 72°C;

Nota: la adquisición de la fluorescencia (Instruments > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection) debe permanecer programada en el paso de hibridación a 60°C.

- modificar los tiempos, como se indica en la siguiente tabla;
- programar un número de 45 ciclos;
- programar el valor de volumen para la simulación software de la transferencia térmica en la reacción ("Sample volume") a 30 µL;
- opcional: agregar la fase de disociación (Add Dissociation Stage) y programar la temperatura en un rango de 40°C a 80°C.

Fase	Ciclo térmico	
	Temperaturas	Tiempos
Descontaminación	50C°	2 min.
Desnaturalización inicial	94C°	2 min.
Amplificación y detección (45 ciclos)	94C°	10 seg.
	60C° (adquisición de la fluorescencia)	30 seg.
	72C°	20 seg.
Disociación(opcional)	95C°	15 seg.
	40C°	30 seg.
	80C°	15 seg.

5328



CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Si se utiliza un equipo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument:

Antes de iniciar la sesión, tomando como referencia la documentación del equipo, es necesario:

- encender el thermal cycler para real time, encender el computador de control, iniciar el software destinado y abrir una sesión "absolute quantification" y programar "Run mode: Fast 7500";
- programar (Detector Manager) el "detector" para la sonda para CMV con el "reporter" = "FAM" y el "quencher" = "none" (no fluorescente) y denominarlo "CMV";
- programar (Detector Manager) el "detector" para la sonda de control interno con el "reporter" = "VIC" (AP525 equivalente al VIC) y el "quencher" = "none" (no fluorescente) y denominarlo "CF";
- para cada pocillo en uso de la microplaca, programar (Well Inspector) los "detector" (tipo de fluorescencia a medir), el "passive reference" = "Cy5" (se usa AP593 en lugar del Cy5, normalización de la fluorescencia medida) normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, control negativo de amplificación, control positivo de amplificación o estándar con la correspondiente cantidad conocida). Completar el Plan de trabajo adjunto al final de este manual de instrucciones de uso transcribiendo estas informaciones o bien imprimir la organización de la microplaca. El Plan de trabajo deberá seguirse con atención durante la transferencia de la mezcla de reacción y de las muestras a los pocillos.

En la sección anterior, relativa al procedimiento para el equipo 7300 Real Time PCR System, se describe un ejemplo de la modalidad de organización de un análisis cuantitativo de algunas muestras.

Con referencia a la documentación del instrumento, programar en el software específico (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile), los parámetros del ciclo térmico:

- agregar, en la fase de amplificación, el paso (Add Step) de extensión a 72°C;

Nota: la adquisición de la fluorescencia (Instruments > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection) debe permanecer programada en el paso de hibridación a 60°C.

- modificar los tiempos, como se indica en la siguiente tabla;
- programar un número de 45 ciclos;
- programar el valor de volumen para la simulación software de la transferencia térmica en la reacción ("Sample volume") a 30 µL;
- opcional: agregar la fase de disociación (Add Dissociation Stage) y programar la temperatura en un rango de 40C° a 80C°.

Ciclo térmico		
Fase	Temperaturas	Tiempos
Descontaminación	50C°	2 min.
Desnaturalización inicial	94C°	2 min.
Amplificación y detección (45 ciclos)	94C°	10 seg.
	60C° (adquisición de la fluorescencia)	30 seg.
	72C°	20 seg.
Disociación(opcional)	95C°	15 seg.
	40C°	1 min.
	80C°	15 seg.
	60C°	15 seg.

CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Preparación de la amplificación

(A realizarse en el área de extracción / preparación de la reacción de amplificación)

Antes de iniciar la sesión es necesario:

- extraer y descongelar las probetas con las muestras a analizar. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer y descongelar las probetas CMV Q - PCR Mix necesarias para la sesión teniendo presente que el contenido de cada una es suficiente para preparar 25 reacciones. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer y descongelar las probetas de CMV Q - PCR Standard. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;
- extraer la Amplification microplate que será utilizada en la sesión, prestando atención de manejarla con guantes sin polvo y de no dañar los pocillos.

1. Transferir, depositándolos cuidadosamente en el fondo sin crear burbujas, 20 µL de mezcla de reacción CMV Q - PCR MIX en los pocillos de la Amplification microplate como fue establecido previamente en el Plan de trabajo.

Nota: Si no se utiliza toda la mezcla de reacción, conservar el volumen restante en lugar oscuro a -20C° por un máximo de un mes. Congelar y descongelar la mezcla de reacción por un máximo de 3 VECES.

2. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, 20 µL de ADN extraído de la primera muestra en el correspondiente pocillo de la Amplification microplate como fue establecido previamente en el Plan de trabajo. Mezclar bien la muestra pipeteando tres veces el volumen de 20 µL en la mezcla de reacción. Prestar atención a no crear burbujas. Proceder del mismo modo con todos los otros ADN extraídos.

3. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, 20 µL de Agua bidestilada estéril (no provista en el producto) en el pocillo de la Amplification microplate de control negativo de amplificación como fue establecido previamente en el Plan de trabajo. Mezclar bien el control negativo pipeteando tres veces el agua bidestilada estéril en la mezcla de reacción. Prestar atención a no crear burbujas.

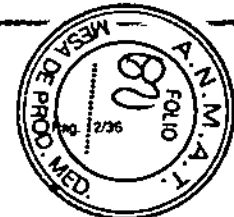
4. Transferir, depositándolos cuidadosamente en la mezcla de reacción, 20 µL de CMV - PCR Standard 10² en el pocillo correspondiente de la Amplification microplate como fue establecido previamente en el Plan de trabajo. Mezclar bien el estándar pipeteando tres veces el CMV Q - PCR Standard 10² en la mezcla de reacción. Prestar atención a no crear burbujas. Proceder de igual manera con los CMV Q - PCR Standard 10³, 10⁴, 10⁵.

5. Sellar cuidadosamente la Amplification microplate con la Amplification Sealing Sheet.

6. Transferir la Amplification microplate en el thermal cycler para real time ubicado en el área de "amplificación / detección" de los productos de amplificación o iniciar el ciclo térmico de amplificación, guardando la programación de la sesión con una identificación unívoca y reconocible (por ej. "año-mes-día-CMV-EGSpA").

Nota: Al finalizar el ciclo térmico, se debe quitar la Amplification microplate con los productos de reacción del equipo y se debe eliminar para no generar contaminaciones ambientales. Nunca levantar la Amplification Sealing Sheet de la Amplification microplate para evitar que se derramen los productos de reacción.

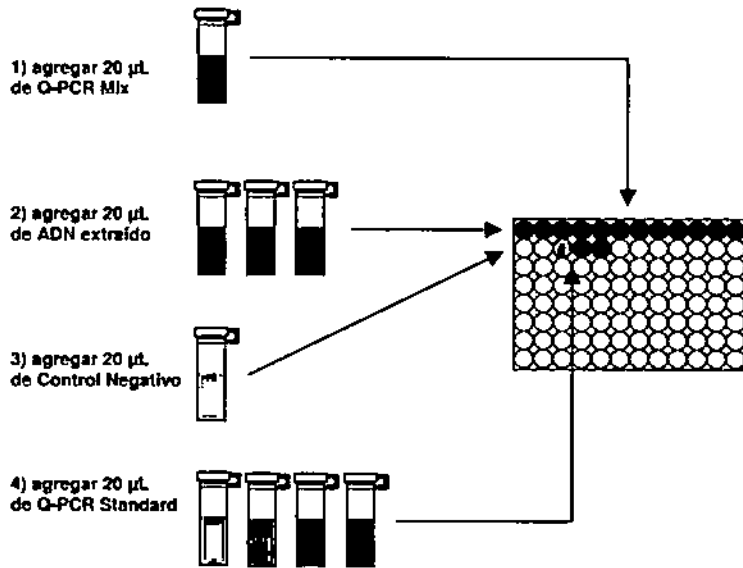
5328



CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

En la siguiente figura se ilustra de manera simbólica el procedimiento para la preparación de las reacciones de amplificación.



Nota: Si la preparación de la amplificación se realiza mediante el equipo «QIASymphony® SPIAS», introducir la microplaca con los extractos, los reactivos y la microplaca de amplificación en los alojamientos específicos, usando los adaptadores, luego respetar lo previsto en el manual de uso del preparador automático y los pasos requeridos por el software.

Análisis cualitativo de los resultados

Los valores registrados de la fluorescencia emitida por la sonda específica para CMV (detector FAM *CMV) y por la sonda específica para el Control Interno (detector VIC *CI) en las reacciones de amplificación deben ser analizados con el software del equipo.

Antes de efectuar el análisis, tomando como referencia la documentación del equipo, es necesario:
- programar manualmente (Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle) el intervalo de cálculo del Nivel de fluorescencia de fondo (Baseline) desde el ciclo 6 al ciclo 15;

Nota: En caso de una muestra positiva con alto título de CMV, la fluorescencia FAM de la sonda específica para CMV puede comenzar a crecer antes del 15º ciclo. En este caso el intervalo de cálculo del Nivel de fluorescencia de fondo debe ser adaptado desde el ciclo 6 al ciclo en el cual la fluorescencia FAM comienza a crecer (Results > Component).

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Si se utiliza un equipo 7300 Real-Time PCR System:

- programar manualmente el Umbral (Threshold) para el detector FAM *CMV en 0,1;
- programar manualmente el Umbral (Threshold) para el detector VIC *CI en 0,05.

Si se utiliza un equipo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument:

- programar manualmente el Umbral (Threshold) para el detector FAM *CMV en 0,1;
- programar manualmente el Umbral (Threshold) para el detector VIC *CI en 0,1.

Los valores de fluorescencia emitidos por las sondas específicas en la reacción de amplificación y el valor Umbral de fluorescencia se utilizan para determinar el Ciclo Umbral (Ct, Threshold cycle), el ciclo en el cual se ha alcanzado el valor Umbral de fluorescencia.

Los valores de Ct para CMV en las reacciones de amplificación de los cuatro Q - PCR Standard se utilizan para calcular la Curva estándar (Results > Standard Curve) de la sesión de amplificación y para confirmar la amplificación y la detección como se describe en la siguiente tabla:

Reacción Q - PCR Standard 10 ⁵ detector FAM *CMV	Resultado de la prueba	Amplificación / Detección
Ct ≤ 25	POSITIVO	CORRECTA
Curva estándar detector FAM *CMV	Intervalo de aceptación	Amplificación / Detección
Coefficiente de Correlación (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación de Q - PCR Standard 10⁵ es Ct > 25 o Ct No determinado (Undetermined) o si el valor del Coeficiente de correlación (R2) no está contenido dentro de los límites, no ha sido detectada correctamente la presencia de ADN blanco. Se han verificado problemas en la fase de amplificación o en la de detección (dispensación incorrecta de la mezcla de reacción o del control positivo, degradación de la mezcla de reacción o del control positivo, programación incorrecta de la posición del control positivo, programación incorrecta del ciclo térmico) que pueden provocar resultados incorrectos. La sesión no es válida y se debe repetir a partir de la fase de amplificación.

En la reacción de amplificación del Control negativo, el valor de Ct para CMV (Results > Report) se utiliza para confirmar la amplificación y la detección como se describe en la siguiente tabla:

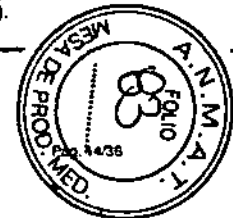
Reacción Control negativo detector FAM *CMV	Resultado de la prueba	Amplificación / Detección
Ct No determinado	NEGATIVO	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación del Control negativo es distinto de Ct No determinado (Undetermined) para CMV, ha sido detectada la presencia de ADN blanco. Se han verificado problemas en la fase de amplificación (contaminación) que pueden causar resultados incorrectos y falsos positivos. La sesión no es válida y se debe repetir a partir de la fase de amplificación.

En las reacciones de amplificación de cada muestra, el valor de Ct para CMV se utiliza para detectar la presencia de ADN blanco, mientras que el valor de Ct para el Control Interno se utiliza para confirmar la extracción, amplificación y detección.

Nota: Verificar con el software del equipo (Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle) que el Ct sea determinado por un aumento rápido y regular de los valores de fluorescencia y no por fenómenos de pico o aumento gradual de la señal de fondo (fondo irregular o alto).

Este producto tiene la capacidad de detectar una cantidad mínima de aproximadamente 11 genomas Equivalentes por reacción, 279 genomas Equivalentes por mL de sangre entera, usando el kit de extracción «EXTRAblood» (véanse las Características de las prestaciones en la página 20).



5328

LIC. ALEJANDRO DIEZ
AGUIRRE
Biosystems S.A.

CMV ELITE MGB® KIT
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados como Ct de las reacciones de amplificación de cada muestra (Results > Report) son utilizados como se describe en la siguiente tabla:

Reacción muestra		Idoneidad de la muestra	Resultado de la prueba	ADN de CMV
detector FAM "CMV"	detector VIC "CI"			
Ct No determinado	Ct > 35 o Ct No determinado	no Idónea	no válido	-
	Ct ≤ 35	Idónea	válido, negativo	NO DETECTADO
Ct Determinado	Ct > 35 o Ct No determinado	Idónea	válido, positivo	DETECTADO
	Ct ≤ 35	Idónea	válido, positivo	DETECTADO

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es Ct No determinado para CMV y Ct > 35 o Ct No determinado para el Control Interno, no ha sido posible detectar de manera eficiente el ADN del Control interno. En este caso, se han verificado problemas durante la fase de amplificación (amplificación no eficiente o nula) o durante la fase de extracción (degradación del ADN de la muestra, muestra con un número de células insuficiente, pérdidas del ADN durante la extracción o presencia de inhibidores en la extracción) que pueden provocar resultados incorrectos y falsos negativos. La muestra no es apta, la prueba no es válida y debe repetirse a partir de la extracción de una nueva muestra.

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es Ct No determinado para CMV y Ct ≤ 35 para el Control Interno, el ADN de CMV no ha sido detectado en el ADN extraído de la muestra, pero no se puede excluir que el ADN de CMV esté presente con un título inferior al límite de detección del producto (ver apartado sobre las Características de las prestaciones en la página 20). En este caso el resultado sería un falso negativo.

Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados considerando todos los datos clínicos y los resultados de los otros exámenes de laboratorio correspondientes al paciente.

Nota: Cuando en la reacción de amplificación correspondiente a una muestra ha sido detectada la presencia de ADN de CMV, la amplificación del Control Interno puede dar como resultado un Ct > 35 o Ct No determinado. En efecto, la reacción de amplificación de baja eficiencia del Control Interno puede ser anulada por competición de la reacción de amplificación de alta eficiencia de CMV. En este caso, la muestra es apta de todas maneras y el resultado positivo de la prueba es válido.

Análisis cuantitativo de los resultados

Después de realizar el procedimiento para el análisis cualitativo de los resultados se puede hacer el análisis cuantitativo de los resultados correspondientes a las muestras positivas.

Los valores de Ct para CMV en las reacciones de amplificación de cada muestra y la Curva estándar (Standard Curve) (Results > Standard Curve) de la sesión de amplificación son utilizados para calcular la Cantidad (Quantity) de ADN blanco presente en las reacciones de amplificación correspondientes a las muestras.

Este producto tiene la capacidad de cuantificar desde 1.000.000 a aproximadamente 13 genomas Equivalentes por reacción, de 25.000.000 a 316 genomas Equivalentes por mL de sangre entera, usando el kit de extracción «EXTRAblood» (véanse las Características de las prestaciones en la página 20), como se describe en la siguiente tabla:

Resultado de la muestra detector FAM "CMV"	genomas Equivalentes de CMV por reacción
Cantidad > 1 x 10 ⁶	SUPERIORES A 1.000.000
1,3 x 10 ⁵ ≤ Cantidad ≤ 1 x 10 ⁶	= Cantidad
Cantidad < 1,3 x 10 ⁵	INFERIORES A 13

DRA. SILVANA ZANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® KIT
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados (Cantidad) de cada muestra (Results > Report) son utilizados para calcular los genomas Equivalentes (gEq) de CMV presentes en la muestra de partida (Nc) según esta fórmula:

$$Nc = \frac{Ve \times Cantidad}{Vc \times Va \times Ep}$$

Donde:
Vc es el volumen de la muestra usado en la extracción en relación con la unidad de medida requerida;
Ep es la eficiencia del procedimiento, extracción y amplificación, expresada en decimales;
Ve es el volumen total obtenido de la extracción expresado en µL;
Va es el volumen del producto de extracción usado en la reacción de amplificación expresado en µL;
Cantidad es el resultado de la reacción de amplificación correspondiente a la muestra expresado en gEq por reacción.

Quando se utilizan muestras de sangre entera recolectada con EDTA y el kit de extracción «EXTRAblood» y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para sangre entera y «EXTRAblood»

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 25 \times \text{Cantidad}$$

Quando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción ELITE STAR System y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para plasma y «ELITE STAR System»

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 28 \times \text{Cantidad}$$

Quando se utilizan muestras de sangre entera recolectada con EDTA y el sistema de extracción ELITE GALAXY System y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para sangre entera y «ELITE GALAXY System»

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 35 \times \text{Cantidad}$$

Quando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción ELITE GALAXY System y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para plasma y «ELITE GALAXY System»

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 35 \times \text{Cantidad}$$

Quando se utilizan muestras de sangre entera recolectada con EDTA y el sistema de extracción «NucliSENS® easyMAG®» y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para sangre entera y «NucliSENS® easyMAG®»

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 50 \times \text{Cantidad}$$

Quando se utilizan muestras de líquido cefalorraquídeo y de orina y el sistema de extracción «NucliSENS® easyMAG®» y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

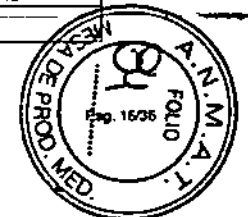
Fórmula simplificada para líquido cefalorraquídeo y orina y «NucliSENS® easyMAG®»

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 10 \times \text{Cantidad}$$

Quando se utilizan muestras de sangre entera recolectada con EDTA y el sistema de extracción «QIASymphony® SPIAS», y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para sangre entera y «QIASymphony® SPIAS»

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = 24 \times \text{Cantidad}$$



5328

Lic. Alejandro Diez
F. Poblete
Biosystems S.A.

CMV ELITE MGB® KIT
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Quando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción «QIASymphony® SP/AS», y se desea obtener el resultado expresado en gEq / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para plasma y «QIASymphony® SP/AS»
$Nc (gEq / mL) = 12 \times \text{Cantidad}$

Conversión de los resultados en las Unidades Internacionales

Quando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el kit de extracción «EXTRAblood» y se desea obtener el resultado expresado en UI / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para sangre entera y «EXTRAblood»
$Fc = 0,76 \text{ UI / gEq}$
$Nc (UI / mL) = Nc (gEq / mL) \times Fc$
$Nc (UI / mL) = 19 \times \text{Cantidad}$

Quando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción «ELITE STAR System» y se desea obtener el resultado expresado en UI / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para plasma y «ELITE STAR System»
$Fc = 1,10 \text{ UI / gEq}$
$Nc (UI / mL) = Nc (gEq / mL) \times Fc$
$Nc (UI / mL) = 30,8 \times \text{Cantidad}$

Quando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el sistema de extracción «ELITE GALAXY System» y se desea obtener el resultado expresado en UI / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para sangre entera y «ELITE GALAXY System»
$Fc = 0,51 \text{ UI / gEq}$
$Nc (UI / mL) = Nc (gEq / mL) \times Fc$
$Nc (UI / mL) = 17,9 \times \text{Cantidad}$

Quando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción «ELITE GALAXY System» y se desea obtener el resultado expresado en UI / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para plasma y «ELITE GALAXY System»
$Fc = 0,27 \text{ UI / gEq}$
$Nc (UI / mL) = Nc (gEq / mL) \times Fc$
$Nc (UI / mL) = 9,5 \times \text{Cantidad}$

Quando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el sistema de extracción «NucliSENS® easyMAG®» y se desea obtener el resultado expresado en UI / mL, la fórmula es:

Fórmula simplificada para sangre entera y «NucliSENS® easyMAG®»
$Fc = 0,61 \text{ UI / gEq}$
$Nc (UI / mL) = Nc (gEq / mL) \times Fc$
$Nc (UI / mL) = 30,5 \times \text{Cantidad}$

Dra. SILVIA ZANELA
DIRECTORA TÉCNICA
M.14.421
BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® KIT
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Quando se utilizan muestras de sangre entera recolectada en EDTA y el sistema de extracción «QIASymphony® SP/AS» y se desea obtener el resultado expresado en UI / mL, la fórmula es:

Límites del intervalo de medición lineal con «QIASymphony® SP/AS»
$Fc = 0,46 \text{ UI / gEq}$
$Nc (UI / mL) = Nc (gEq / mL) \times Fc$
$Nc (UI / mL) = 11 \times \text{Cantidad}$

Quando se utilizan muestras de plasma extraído con EDTA y el sistema de extracción «QIASymphony® SP/AS» y se desea obtener el resultado expresado en UI / mL, la fórmula es:

Límites del intervalo de medición lineal con «QIASymphony® SP/AS»
$Fc = 0,87 \text{ UI / gEq}$
$Nc (UI / mL) = Nc (gEq / mL) \times Fc$
$Nc (UI / mL) = 10 \times \text{Cantidad}$

Donde: Fc es el factor de conversión establecido utilizando el material de referencia calibrado aprobado por la OMS "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques", NIBSC, Reino Unido, código 09/162 (véanse las Características de las prestaciones en la página 20).

5328



Lic. Alejandro Biez
Apodado
Biosystems S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar con este producto sólo el ADN extraído de las siguientes muestras clínicas: sangre entera recolectada con EDTA, plasma extraído con EDTA, líquido cefalorraquídeo, orina.

No utilizar con este producto el ADN extraído de muestras heparinizadas: la heparina inhibe la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y produce resultados no válidos.

No utilizar con este producto ADN extraído contaminado por hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol o 2-propanol: estas sustancias inhiben la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y pueden causar resultados no válidos.

No utilizar con este producto ADN extraído que contenga elevadas cantidades de ADN genómico humano que puedan inhibir la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos.

No hay datos disponibles referidos a las prestaciones de este producto con el ADN extraído de las siguientes muestras clínicas: suspensiones de leucocitos, suspensiones de granulocitos, líquido amniótico, saliva.

No hay datos disponibles referidos a eventuales fenómenos de inhibición por parte de fármacos antibióticos, antivirales, quimioterápicos o inmunosupresores.

Los resultados obtenidos con este producto dependen de la correcta identificación, recolección, transporte, conservación y preparación de las muestras; para evitar resultados erróneos es necesario tener una particular atención a estas fases y seguir atentamente las instrucciones provistas con los productos para la extracción de los ácidos nucleicos.

La metodología de amplificación real time de los ácidos nucleicos utilizada en este producto, debido a su alta sensibilidad analítica, está sujeta a contaminación por parte de muestras clínicas positivas para CMV, de los controles positivos y de los mismos productos de la reacción de amplificación. Las contaminaciones llevan a resultados falsos positivos. Las modalidades de realización del producto son capaces de reducir las contaminaciones; sin embargo, estos fenómenos pueden evitarse sólo con una buena práctica de las técnicas de laboratorio y siguiendo atentamente las instrucciones provistas en este manual.

Este producto requiere personal competente e instruido para la manipulación de muestras biológicas capaces de transmitir infecciones y de preparados químicos clasificados como peligrosos, para evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario u otras personas.

Este producto requiere indumentaria y áreas de trabajo adecuadas para la manipulación de muestras biológicas capaces de transmitir infecciones y de preparados químicos clasificados como peligrosos, para evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario u otras personas.

Este producto requiere personal competente e instruido para los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos para evitar resultados incorrectos.

Este producto requiere áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de los productos de amplificación para evitar resultados falsos positivos.

Este producto requiere el uso de indumentaria de trabajo e instrumentos destinados a la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de los productos de amplificación para evitar resultados falsos positivos.

Debido a las diferencias intrínsecas en las diferentes tecnologías, se recomienda realizar estudios de correlación para estimar estas diferencias antes de pasar a un producto nuevo.

Un resultado negativo obtenido con este producto indica que el ADN de CMV no ha sido detectado en el ADN extraído de la muestra, pero no se puede excluir que el ADN de CMV esté presente con un título inferior al límite de detección del producto (ver Características de las prestaciones en la página 20); en este caso el resultado sería un falso negativo.

Un resultado no válido obtenido con este producto indica que no se ha podido detectar de modo eficiente el ADN del Control Interno; en este caso se deberá repetir el análisis de la muestra a partir de la extracción con posibles retrasos en la obtención del resultado.

Los posibles polimorfismos en la región del genoma viral en los cuales hibridan los oligonucleótidos primers y la sonda del producto podrían perjudicar la detección y cuantificación del ADN de CMV.

Como para cualquier otro dispositivo de diagnóstico, los resultados obtenidos con este producto deben ser interpretados considerando todos los datos clínicos y otros exámenes de laboratorio correspondientes al paciente.

Como para cualquier otro dispositivo de diagnóstico, existe un riesgo latente de obtener resultados no válidos, falsos positivos y falsos negativos con este producto. Dicho riesgo latente no puede ser eliminado ni reducido ulteriormente. Este riesgo latente en situaciones particulares, como los diagnósticos prenatales y de urgencia, puede contribuir a decisiones incorrectas con consecuencias potencialmente graves para el paciente.

Dra. S. VIVIANA ZANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
C/MNH 4.421
BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES

Sensibilidad analítica: límite de detección

La sensibilidad analítica de esta prueba, como límite de detección, permite detectar la presencia de aproximadamente 11 genomas Equivalentes en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de la prueba, como límite de detección, ha sido testada utilizando un ADN plasmídico que contiene el producto de amplificación cuya concentración inicial ha sido medida espectrofotométricamente. El ADN plasmídico ha sido diluido con un título de 10 copias / 20 µL en ADN genómico humano con un título de 500 ng / 20 µL. Esta muestra fue utilizada en 50 repeticiones para realizar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
10 copias ADN plasmídico + 500 ng de ADN genómico humano	50	50	0

La sensibilidad analítica de la prueba ha sido verificada utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite utilizando muestras de sangre entera y «EXTRAblood». El panel ha sido preparado utilizando muestras de sangre entera negativa para el ADN de CMV positivizadas con el material de referencia calibrado y certificado OptiQuant CMV DNA (cepa AD169, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos) con una concentración de 3.160 gEq / mL a 1 gEq / mL. Cada muestra del panel ha sido utilizada en 24 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha llevado a cabo con la regresión Probit. El límite de detección se ha definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%. Los resultados se presentan en las siguientes tablas.

Límite de detección con muestras de sangre entera y «EXTRAblood» (gEq / mL)			
Intervalo de fiabilidad del 95%			
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	279 gEq / mL	198 gEq / mL	466 gEq / mL

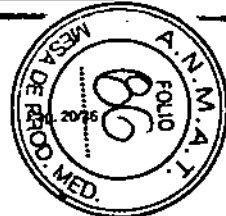
Límite de detección con muestras de sangre entera y «EXTRAblood» (gEq / reacción)			
Intervalo de fiabilidad del 95%			
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	11,2 gEq / reac.	7,9 gEq / reac.	18,6 gEq / reac.

Las conversiones de gEq / mL a gEq / reacción se han calculado como se indica en la página 15.

La sensibilidad analítica de la prueba se ha verificado utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite junto con muestras de plasma y ELITE STAR System. El panel se ha preparado siguiendo el "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC code 09/162, Reino Unido) en plasma extraído con EDTA y negativa para el ADN de CMV. Las concentraciones virales variaban de 3,160 UI / mL a 1000 IU / mL. Cada muestra del panel se ha testado en doce repeticiones para llevar a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con sistema de extracción automático ELITE STAR System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha realizado con la regresión Probit. El límite de detección ha sido definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%. Los resultados se presentan en las siguientes tablas.

Límite de detección con muestras de plasma y «ELITE STAR System» (UI / mL)			
Intervalo de fiabilidad del 95%			
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	222 UI / mL	126 UI / mL	1638 UI / mL

5328



Biosystems S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La sensibilidad analítica se indica como gEq/mL en la siguiente tabla:

Límite de detección con muestras de plasma y «ELITE STAR System» (gEq / mL)			
Intervalo de fiabilidad del 95%			
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	201 gEq / mL	114 gEq / mL	1489 gEq / mL

La sensibilidad analítica como Eq/mL para muestras de plasma y ELITE STAR System se calcula aplicando el factor específico de conversión citado en la página 24.

La sensibilidad analítica de la prueba se ha verificado utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite junto con muestras de sangre entera y ELITE GALAXY System. El panel se ha preparado diluyendo el "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC code 09/162, Reino Unido) en sangre entera recolectada con EDTA y negativa para el ADN de CMV. Las concentraciones virales variaban de 10 UI / mL a 560 IU / mL. Cada muestra del panel se ha testado en doce repeticiones para llevar a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha realizado con la regresión Probit. El límite de detección ha sido definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%. Los resultados se presentan en las siguientes tablas.

Límite de detección con muestras de sangre entera y «ELITE GALAXY System» (UI / mL)			
Intervalo de fiabilidad del 95%			
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	127 UI / mL	75 UI / mL	435 UI / mL

La sensibilidad analítica se indica como gEq/mL en la siguiente tabla:

Límite de detección con muestras de sangre entera y «ELITE GALAXY System» (gEq / mL)			
Intervalo de fiabilidad del 95%			
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	249 gEq / mL	147 gEq / mL	853 gEq / mL

La sensibilidad analítica como Eq/mL para muestras de sangre entera y ELITE GALAXY System se calcula aplicando el factor específico de conversión citado en la página 24.

La sensibilidad analítica de la prueba se ha verificado utilizando un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite junto con muestras de plasma y ELITE GALAXY System. El panel se ha preparado diluyendo el "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC code 09/162, Reino Unido) en plasma extraído con EDTA y negativa para el ADN de CMV. Las concentraciones virales variaban de 10 UI / mL a 560 IU / mL. Cada muestra del panel se ha testado en doce repeticiones para llevar a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis estadístico se ha realizado con la regresión Probit. El límite de detección ha sido definido como la concentración en la cual la probabilidad de obtener un resultado positivo es del 95%. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Límite de detección con muestras de plasma y «ELITE GALAXY System» (UI / mL)			
Intervalo de fiabilidad del 95%			
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	140 UI / mL	86 UI / mL	381 UI / mL

Dra. SILVANA ZANELLA
DIRETORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La sensibilidad analítica se indica como gEq/mL en la siguiente tabla:

Límite de detección con muestras de plasma y «ELITE GALAXY System» (gEq / mL)			
Intervalo de fiabilidad del 95%			
		Valor inferior	Valor superior
95% resultado positivo	519 gEq / mL	319 gEq / mL	1411 gEq / mL

La sensibilidad analítica como Eq/mL para muestras de plasma y ELITE GALAXY System se calcula aplicando el factor específico de conversión citado en la página 24.

Sensibilidad analítica; intervalo de medición lineal

La sensibilidad analítica de esta prueba, como intervalo de medición lineal, permite cuantificar desde aproximadamente 1.000.000 a alrededor de 13 genomas Equivalentes en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de la prueba ha sido evaluada utilizando un panel de diluciones (1 Log₁₀ entre una dilución y la siguiente) de ADN plasmídico que contiene el producto de amplificación, cuya concentración inicial ha sido medida espectrofotométricamente. Los puntos del panel de 10⁷ moléculas por reacción a 10¹ moléculas por reacción han sido utilizados en 9 repeticiones para efectuar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. El análisis de los datos obtenidos, realizado con la regresión lineal, ha demostrado que la prueba presenta una respuesta lineal para todos los puntos del panel (coeficiente de correlación lineal superior a 0,99).

El límite inferior del intervalo de medición lineal ha sido fijado en aproximadamente 13 gEq / reacción, porque en las pruebas para el estudio del límite de detección, la dilución en 316 gEq / mL es la última que presenta el 100% de positividad. El límite inferior del intervalo de medición lineal se encuentra dentro de un logaritmo del valor del estándar de amplificación Q - PCR Standard de concentración más baja (10² gEq / 20 µL).

El límite superior del intervalo de medición lineal ha sido fijado en 10⁶ gEq / reacción, dentro de un logaritmo del valor del estándar de amplificación Q - PCR Standard de concentración más alta, (10⁵ gEq / 20 µL). Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Intervalo de medición lineal con muestras de sangre entera y «EXTRAblood»		
	Límite inferior	Límite superior
gEq / Ml	316	25.000.000
gEq / reacción	12,6	1.000.000

Las conversiones de gEq / mL a gEq / reacción, y viceversa, se han calculado como se indica en la página 16.

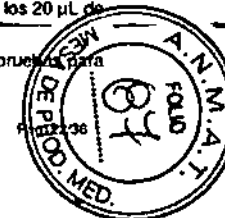
Sensibilidad analítica: Precisión y Exactitud

La precisión de la prueba, como variabilidad de los resultados obtenidos en una misma sesión de amplificación con distintas repeticiones de una muestra, ha permitido obtener un Coeficiente de Variación porcentual (CV %) promedio de los valores de Ct inferior al 2% dentro del intervalo de 10⁶ moléculas a 10¹ moléculas en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La precisión de la prueba, como variabilidad de los resultados obtenidos en una misma sesión de amplificación con distintas repeticiones de una muestra, ha permitido obtener un Coeficiente de Variación porcentual (CV %) promedio de las cantidades medidas de aproximadamente el 21% dentro del intervalo de 10⁶ moléculas a 10¹ moléculas en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La exactitud de la prueba, como diferencia entre el promedio de los resultados obtenidos en una misma sesión de amplificación con distintas repeticiones de una muestra y el valor teórico de la concentración de la muestra, ha permitido obtener una inexactitud porcentual promedio de las cantidades medidas de aproximadamente el 20% dentro del intervalo de 10⁶ moléculas a 10¹ moléculas en los 20 µL de ADN agregados a la reacción de amplificación.

La precisión y la exactitud han sido determinadas utilizando los datos obtenidos en las pruebas para el estudio del intervalo de medición lineal.



Lic. Alejandro Díez
 Responsable de
 Biosystems S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Sensibilidad analítica: reproducibilidad con panel de material de referencia certificado

La sensibilidad analítica de la prueba, como reproducibilidad de los resultados en comparación con los resultados obtenidos con otras metodologías y en distintos laboratorios, ha sido verificada con un panel de material de referencia certificado.

Las pruebas han sido realizadas utilizando como material de referencia calibrado y certificado un panel de diluciones de CMV dentro de la concentración límite (cepa AD169, OCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Onostics Ltd, Escocia, Reino Unido). Cada muestra del panel ha sido utilizada en 2 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción con «EXTRAblood» y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Pruebas con material de referencia calibrado				
Muestra	Consensus Log ₁₀ conc. viral	Desviación Estándar	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log ₁₀ gEq / mL
CMV09-01	4,368	0,465	2/2	4,064
CMV09-02	2,995	0,400	2/2	2,984
CMV09-03	2,297	0,583	2/2	2,038
CMV09-04	5,407	0,442	2/2	5,026
CMV09-05	2,995	0,444	2/2	2,902
CMV09-06	3,493	0,421	2/2	3,231
CMV09-07	4,379	0,412	2/2	4,129
CMV09-08	Negativo	NA	0/2	Non detectado
CMV09-09	6,374	0,457	2/2	5,943
CMV09-10	2,352	0,542	2/2	1,996
CMV09-11	2,407	0,513	2/2	2,105
CMV09-12	3,645	0,449	2/2	3,539

Todas las muestras han sido detectadas correctamente. Los resultados cuantitativos obtenidos están comprendidos en el intervalo definido por el Consensus de las pruebas comerciales ± 1 Desviación Estándar, como es requerido.

Se han realizado otras pruebas utilizando material de referencia calibrado, un panel de diluciones de CMV comprendido dentro del límite de concentración (OCMD 2012 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Scotland, Reino Unido). Cada muestra ha sido testada en duplicado para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE STAR System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados en UI / mL, que se citan en la siguiente tabla, se han determinado aplicando el factor de conversión para ELITE STAR System y plasma y se resumen en la siguiente tabla.

Pruebas con material de referencia calibrado y ELITE STAR System				
Muestra	Consensus Log ₁₀ conc. viral	Desviación Estándar	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log ₁₀ UI / mL
CMV12-01	4,409	0,349	2/2	4,580
CMV12-02	3,925	0,335	2/2	4,111
CMV12-03	2,297	0,507	1/2	2,423
CMV12-04	2,021	0,617	1/2	2,320
CMV12-05	3,158	0,613	2/2	3,529
CMV12-06	3,448	0,361	2/2	3,594
CMV12-07	3,490	0,377	2/2	3,321
CMV12-08	Negativo	NA	0/2	Non detectado
CMV12-09	3,767	0,374	2/2	3,760
CMV12-10	2,826	0,456	2/2	3,023

Todas las muestras han sido detectadas correctamente. Los resultados cuantitativos obtenidos están comprendidos en el intervalo definido por el Consensus de las pruebas comerciales ± 1 Desviación Estándar, tal como es requerido.

Dra. SILVANA ZANELLA
 DIRECTORA TÉCNICA
 MN 14.421
 BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Se han realizado otras pruebas utilizando material de referencia calibrado, un panel de diluciones de CMV comprendido dentro del límite de concentración (OCMD 2012 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Scotland, Reino Unido). Cada muestra ha sido testada en duplicado para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados en UI / mL, que se citan en la siguiente tabla, se han determinado aplicando el factor de conversión para ELITE GALAXY System y plasma y se resumen en la siguiente tabla.

Pruebas con material de referencia calibrado y «ELITE GALAXY System»				
Campione	Consensus Log ₁₀ conc. viral	Desviación Estándar	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados Log ₁₀ gEq / mL
CMV12-01	4,409	0,349	2/2	4,010
CMV12-02	3,925	0,335	2/2	3,484
CMV12-03	2,297	0,507	1/1	1,811
CMV12-04	2,021	0,617	2/2	1,647
CMV12-05	3,158	0,613	2/2	2,511
CMV12-06	3,448	0,361	2/2	3,106
CMV12-07	3,490	0,377	2/2	3,319
CMV12-08	Negativo	NA	0/2	Non detectado
CMV12-09	3,767	0,374	2/2	3,486
CMV12-10	2,826	0,456	2/2	2,593

Se ha excluido una repetición de CMV12-03 del análisis debido a una avería del sistema durante la fase inicial de extracción. En el análisis cualitativo, todas las muestras se han detectado correctamente. En el análisis cuantitativo, 6/9 muestras positivas se han cuantificado correctamente dentro del intervalo de 0,5 log con respecto al título previsto. Las muestras CMV12-01 y CMV12-07 están asociadas. La diferencia entre CMV12-01 (4,579 log) y CMV12-07 (3,888 log) ha resultado igual a 0,691, por lo cual, está comprendida dentro del intervalo previsto. El resultado CMV12-07 se ha considerado válido.

Sensibilidad analítica: Factor de conversión en las Unidades Internacionales

El factor de conversión para utilizar con esta prueba para transformar el resultado cuantitativo de gEq / mL a Unidades Internacionales / mL, con muestras de sangre entera recolectada con EDTA se ha definido como:

- 0,76 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el kit de extracción manual «EXTRAblood»;
 - 0,51 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático ELITE GALAXY System;
 - 0,61 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático «NucleiSENS® easyMAG®»;
 - 0,46 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático «QIASymphony® SP/AS®».
- El factor de conversión para utilizar con esta prueba para transformar el resultado cuantitativo de gEq / mL en Unidades Internacionales / mL con muestras de plasma extraído con EDTA se ha definido como se ha definido como:
- 1,10 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático ELITE STAR System;
 - 0,27 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático ELITE GALAXY System;
 - 0,87 Unidades Internacionales / gEq cuando se utiliza el sistema de extracción automático «QIASymphony® SP/AS®».

Los datos correspondientes a cada factor de conversión se citan a continuación.

Sangre entera recolectada con EDTA

El factor de conversión se ha determinado utilizando un panel de cuatro diluciones (0,5, 1, 2 y 4) dentro una dilución y la siguiente) de material de referencia calibrado aprobado por la OMS ("1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques", NIBSC, Reino Unido, código 09/162) en sangre entera recolectada con EDTA.



5328

Lic. Alejandro Diez
Biosystems S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 8 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción con «EXTRAblood» y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,76 Unidades Internacionales (UI) por gEq de CMV detectado. Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y «EXTRAblood» (Fc = 0,76 UI / gEq)

Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log ₁₀ UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log ₁₀ UI / mL
316.255	5,500	362.383	275.411	5,440
100.000	5,000	155.738	118.361	5,073
31.625	4,500	39.503	30.022	4,477
10.000	4,000	13.623	10.353	4,015

Los cuatro puntos del panel se han empleado en 15 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE STAR System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,79 Unidades Internacionales (UI) para gEq de CMV detectado en muestras de plasma. Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y «ELITE STAR System» (Fc = 0,79 UI / gEq)

Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log ₁₀ UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log ₁₀ UI / mL
316.255	5,500	568.090	464.398	5,620
100.000	5,000	135.119	106.744	4,997
31.625	4,500	42.655	33.698	4,488
10.000	4,000	14.486	11.444	4,014
3.162	3,500	3.717	2.936	3,401

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 8 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NuclISENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,61 Unidades Internacionales (UI) por gEq de CMV detectado. Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y «NuclISENS® easyMAG®» (Fc = 0,61 UI / gEq)

Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log ₁₀ UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log ₁₀ UI / mL
316.255	5,500	564.835	344.549	5,537
100.000	5,000	178.704	109.009	5,037
31.625	4,500	51.454	31.387	4,497
10.000	4,000	14.141	8.626	3,936

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 8 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,46 Unidades Internacionales (UI) por gEq de CMV detectado.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con sangre entera y «QIASymphony® SP/AS» (Fc = 0,46 UI / gEq)

Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log ₁₀ UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log ₁₀ UI / mL
316.255	5,500	599.940	275.972	5,435
100.000	5,000	222.073	102.153	5,004
31.625	4,500	70.712	32.527	4,497
10.000	4,000	24.326	11.190	4,038

Plasma extraído con EDTA

El factor de conversión se ha determinado utilizando un panel de cuatro diluciones (0,5 Log₁₀ entre una dilución y la siguiente) de material de referencia calibrado aprobado por la OMS ("1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques", NIBSC, Reino Unido, código 09/162), en plasma extraído con EDTA.

Los cuatro puntos del panel se han empleado en 15 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE STAR System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 1,10 Unidades Internacionales (UI) para gEq de CMV detectado en muestras de plasma. Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con plasma y «ELITE STAR System» (Fc = 1,10 UI / gEq)

Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log ₁₀ UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log ₁₀ UI / mL
316.255	5,500	282.851	311.136	5,481
100.000	5,000	107.043	117.747	5,058
31.625	4,500	30.868	33.955	4,512
10.000	4,000	8.632	9.495	3,972
3.162	3,500	2.814	3.096	3,478

Los cuatro puntos del panel se han empleado en 15 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,27 Unidades Internacionales (UI) para gEq de CMV detectado en muestras de plasma. Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

Conversión en las Unidades Internacionales con plasma y «ELITE GALAXY System» (Fc = 0,27 UI / gEq)

Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log ₁₀ UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log ₁₀ UI / mL
316.228	5,500	1.095.881	301.020	5,413
100.000	5,000	460.141	126.393	5,083
31.623	4,500	117.258	32.209	4,448
10.000	4,000	43.980	12.081	4,053
3.162	3,500	13.713	3.767	3,546

Los cuatro puntos del panel se han utilizado en 8 repeticiones para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos ha permitido calcular un factor de conversión (Fc) promedio igual a 0,87 Unidades Internacionales (UI) por gEq de CMV detectado en muestras de plasma.

Dra. SILVANA ZANELA
BIOSYSTEMS S.A.



CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados finales se presentan en la siguiente tabla.

Conc. esperada UI / mL	Conc. esperada Log ₁₀ UI / mL	Cantidad promedio gEq / mL	Cantidad promedio UI / mL	Cantidad promedio Log ₁₀ UI / mL
316.255	5,500	330.340	287.396	5,458
100.000	5,000	101.683	86.464	4,947
31.625	4,500	40.963	35.638	4,551
10.000	4,000	13.148	11.438	4,058

Sensibilidad diagnóstica: eficiencia de la detección y cuantificación en distintos genotipos / subtipos

La sensibilidad diagnóstica de la prueba, como eficiencia de detección y cuantificación en distintos genotipos / subtipos, ha sido evaluada confrontando las secuencias con bases de datos nucleotídicas.

El examen de las regiones elegidas para la hibridación de los oligonucleótidos cebadores y de la sonda fluorescente sobre la alineación de las secuencias disponibles en la base de datos del exon 4 del gen MIEA de CMV, entre las que se encuentran las de las cepas AD169 y Merlin, ha demostrado su conservación y la ausencia de mutaciones significativas.

La sensibilidad diagnóstica de la prueba, como eficiencia de detección y cuantificación en distintos genotipos / subtipos, ha sido evaluada utilizando una construcción plasmídica que contiene la región amplificada del CMV de la cepa Merlin.

La eficiencia de detección y cuantificación ha sido evaluada utilizando como material de referencia una construcción plasmídica que contiene la región amplificada del CMV de la cepa Merlin (GENEART A.G., Alemania). El ADN plasmídico ha sido diluido en las concentraciones de 100.000, 10.000, 1.000, 100 y 10 copias por reacción. Cada muestra ha sido utilizada para realizar la amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Muestra	Concentración teórica copias / reacción	Positivas / Repeticiones	Promedio de los resultados copias / reacción
plásmido pMerlin 10 ⁵	100.000	3 / 3	93.699
plásmido pMerlin 10 ⁴	10.000	3 / 3	8.815
plásmido pMerlin 10 ³	1.000	3 / 3	898
plásmido pMerlin 10 ²	100	3 / 3	100
plásmido pMerlin 10 ¹	10	9 / 9	11

El plásmido Merlin ha sido detectado y cuantificado correctamente incluso en la concentración de 10 copias por reacción.

Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica de la prueba, como confirmación de muestras clínicas positivas, ha sido evaluada utilizando algunas muestras clínicas de sangre entera positivas para el ADN de CMV.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 54 muestras de sangre entera recolectada en EDTA negativas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el DNA de CMV	54	53	0

Una muestra ha arrojado un resultado "no válido" en dos sesiones de análisis distintas. El resultado "no válido", probablemente, ha sido determinado por un inhibidor no identificado presente en la muestra. Esta muestra ha sido excluida del cálculo de la sensibilidad diagnóstica. La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,1%.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 68 muestras de plasma extraído con EDTA positivas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE STAR System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma extraído con EDTA positiva para el DNA de CMV	68	66	2

Dos muestras han arrojado un resultado negativo con los productos ELITechGroup S.p.A. Esta discrepancia puede explicarse dado que el título CMV de la muestra es cercano o inferior al límite de revelación del método usado (280 gEq/mL). La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 97,1%.

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 60 muestras de sangre entera recolectada con EDTA positivas para el ADN de CMV (testadas con un producto CE IVD de amplificación real time). Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el DNA de CMV	60	60	0

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 51 muestras de plasma extraído con EDTA positivas para el ADN de CMV (testadas con un producto CE IVD de amplificación real time). Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma extraído con EDTA positiva para el DNA de CMV	51	47	4

Cuatro muestras han arrojado un resultado negativo con los productos ELITechGroup S.p.A. Esta discrepancia puede explicarse dado que los títulos CMV de las muestras discordantes (respectivamente, <350 gEq/mL, <350 gEq/mL, 961 gEq/mL y 534 gEq/mL) son cercanos o inferiores al límite superior de revelación del método utilizado (1411 gEq/mL). Muestras dentro del intervalo de confianza del límite de revelación pueden arrojar estocásticamente un resultado positivo o negativo, debido a la distribución casual de las partículas virales. La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 92,16%.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 50 muestras de sangre entera recolectada en EDTA de donantes normales presumiblemente negativas, positivizadas para el ADN de CMV con una muestra de material de referencia certificada y calibrada (QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Qnostics Ltd, Escocia, Reino Unido) con un título de 1500 copias / mL. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucliSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positivizada para el DNA de CMV	50	50	0

La sensibilidad de diagnóstico de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,0%.

La sensibilidad de diagnóstico ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de sangre entera recolectada en EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV, positivizadas para el ADN de CMV con una muestra de material de referencia certificada y calibrada (QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Qnostics Ltd, Escocia, Reino Unido) con un título de 700 copias / mL. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Lic. Alejandro Diez
Biosystems S.A.

Dra. Lidia Zanella
Directora Técnica
Biosystems S.A.

5328
FOLIO
A.N.M.A.T.
LAB. MED.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positvizado para el DNA de CMV	60	60	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de plasma extraído con EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV, positvizadas para el ADN de CMV con una muestra de material de referencia certificada y calibrada (OCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Onostics Ltd, Escocia, Reino Unido) con un título de 360 copias / mL. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma extraído con EDTA positvizado para el DNA de CMV	60	60	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La sensibilidad de diagnóstico ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de líquido cefalorraquídeo negativas, positvizadas para el ADN de CMV con una muestra de material de referencia certificada y calibrada (OCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EQA Panel, Onostics Ltd, Escocia, Reino Unido) con un título de 300 copias / mL. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucLiSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Líquido cefalorraquídeo positvizado para el ADN de CMV	60	60	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La sensibilidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 52 muestras clínicas de orina positivas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucLiSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Orina positiva para el ADN de CMV	52	52	0

La sensibilidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,1%.

Especificidad analítica: ausencia de reactividad cruzada con marcadores potencialmente interferentes

La especificidad analítica de la prueba, como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, ha sido evaluada confrontando las secuencias con bases de datos nucleotídicas.

El análisis de la alineación de las secuencias de los oligonucleótidos cebadores y de la sonda fluorescente con las secuencias disponibles en la base de datos de organismos distintos de CMV, entre las cuales se encuentran las del genoma completo de HHV6, el virus herpes humano más parecido al CMV, ha demostrado su especificidad y la ausencia de homología significativas.

La especificidad analítica de la prueba, como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, ha sido verificada utilizando algunas muestras clínicas negativas para el ADN de CMV pero positivas para el ADN de HHV6, EBV y VZV que han sido confirmados negativos.

La especificidad analítica se ha corroborado utilizando como material de referencia 16 muestras de sangre entera recolectada en EDTA, negativas para el ADN de CMV, pero positivas para el ADN de HHV6, EBV y VZV (testadas con productos CE IVD de amplificación real time). Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de HHV6	8	0	8
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de EBV	7	0	7
Sangre entera recolectada en EDTA positiva para el ADN de VZV	1	0	1

Especificidad diagnóstica: confirmación de muestras negativas

La especificidad diagnóstica de la prueba, como confirmación de muestras clínicas negativas, ha sido evaluada utilizando algunas muestras clínicas de sangre entera negativas para el ADN de CMV.

La especificidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 56 muestras de sangre entera recolectada en EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	56	0	56

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,2%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 61 muestras de plasma extraído con EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema de extracción automático ELITE STAR System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma extraído con EDTA negativa para el ADN de CMV	61	0	61

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 61 muestras de sangre entera recolectada con EDTA negativas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción y configuración PCR con el sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	66	0	66

Una muestra ha resultado "no válida" debido a un inhibidor no identificado en la muestra. Este ejemplo no se ha incluido en el cálculo de la sensibilidad de diagnóstico. La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

La especificidad diagnóstica se ha evaluado utilizando como material de referencia 64 muestras de plasma extraído con EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema de extracción automático ELITE GALAXY System y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

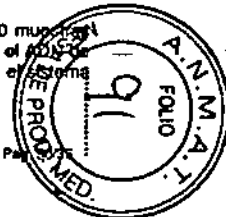
Muestras	N	positivas	negativas
Plasma extraído con EDTA negativa para el ADN de CMV	64	0	64

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado igual al 100%.

La especificidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 50 muestras de sangre entera recolectada en EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucLiSENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A.

Lle Mendonzo Diez
Asesorado
BIO SYSTEMS S.A.

Dra. SHARINAZ ANIELA
DIRECTORA TÉCNICA
MIN 14.471
BIO SYSTEMS S.A.



Biosystems S.A.

Lic. Alejandro Díez
Rodríguez

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	50	0	50

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,0%.

La especificidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de sangre entera recolectada en EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positivizada para el DNA de CMV	60	1	59

Una muestra de sangre entera negativa para el ADN de CMV ha dado un resultado positivo para CMV con los productos ELITechGroup S.p.A. El resultado discordante puede ser explicado debido a un título muy bajo del ADN de CMV (aproximadamente 2 gEq / reacción), por una infección latente de CMV, un virus ampliamente extendido en la población. La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La especificidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de plasma extraído con EDTA de donantes normales, presumiblemente negativas para el ADN de CMV. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «QIASymphony® SP/AS» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Plasma extraído con EDTA negativa para el ADN de CMV	60	1	59

Una muestra de plasma negativa para el ADN de CMV ha arrojado un resultado positivo con un título de CMV demasiado bajo (aproximadamente 2 gEq / reacción) con los productos ELITechGroup S.p.A. Esta discrepancia puede explicarse con una infección latente de CMV, un virus ampliamente difundido en la población. La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La especificidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 60 muestras de líquido cefalorraquídeo recolectada en EDTA negativas para el ADN CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucLISENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Líquido cefalorraquídeo positivizado para el ADN de CMV	60	0	56

La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,3%.

La especificidad diagnóstica ha sido evaluada utilizando como material de referencia 56 muestras de orina negativas para el ADN de CMV, testadas con un producto CE IVD de amplificación real time. Cada muestra ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático «NucLISENS® easyMAG®» y amplificación con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	Nº	positivas	negativas
Orina negativa para el ADN de CMV	56	1	55

Una muestra de orina negativa para el ADN de CMV ha dado un resultado positivo para CMV con los productos ELITechGroup S.p.A. El resultado discordante puede ser explicado debido a un título muy bajo del ADN de CMV (aproximadamente 4 gEq / reacción), probablemente por debajo que el límite de detección del método de referencia. La especificidad diagnóstica de la prueba en este caso ha resultado superior al 98,2%.

Dra. SAVINA ZANETTI
DIRECTORA TÉCNICA
BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Resistencia: ausencia de contaminación cruzada

La resistencia de esta prueba, como ausencia de contaminación cruzada, ha sido verificada analizando los resultados de cinco sesiones, en las cuales muestras negativas para el ADN de CMV han sido alternadas con muestras positivizadas para el ADN de CMV. Ninguna muestra negativa para el ADN de CMV ha resultado positiva.

La ausencia de contaminación cruzada ha sido verificada utilizando una muestra de sangre entera negativa para el ADN de CMV positivizada con el material de referencia calibrado y certificado OptiQuant CMV DNA (cepa AD169, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos) con un título de 8.300 gEq / mL y una muestra de sangre entera positiva para el ADN de CMV. Se han utilizado cinco series de 12 muestras, alternando una muestra positivizada con otra negativa, para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positivizada para el ADN de CMV	30	30	0
Sangre entera recolectada en EDTA negativa para el ADN de CMV	30	0	30

Resistencia: tasa global de error del sistema

La resistencia de la prueba, como tasa global de error del sistema que arroja resultados falsos negativos, ha sido verificada realizando el análisis de un panel de muestras positivizadas para el ADN de CMV con bajo título y ha resultado menor al 1,7%.

La tasa global de error ha sido verificada utilizando un panel de muestras de sangre entera negativa para el ADN de CMV positivizado con el material de referencia calibrado y certificado OptiQuant CMV DNA (cepa AD169, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos) con un título de 900 gEq / mL. Cada muestra del panel ha sido utilizada para realizar todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, con los productos ELITechGroup S.p.A. Los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recolectada en EDTA positivizada para el ADN de CMV	60	60	0

Nota: Los datos y los resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de las presentaciones del producto con las matrices y los equipos están señaladas en la Sección 7 del Fascículo Técnico del Producto "CMV ELITE MGB® Kit", FTP RTK015PLD.

BIBLIOGRAFÍA

T. E. Fenner et al. (1991) *J Clin Microbiology* 29: 2621 - 2622
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

5328



Lic. Alejandro Díez
 Responsable
 BioSystems S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

ADN blanco no detectado en la reacción dos Q - PCR Standard o Coeficiente de correlación de la Curva estándar no válido	
Causas posibles	Soluciones
Error en la dispensación de la microplaca.	Dispensar cuidadosamente los reactivos en la microplaca siguiendo el plan de trabajo. Controlar los volúmenes de mezcla de reacción dispensados. Controlar los volúmenes dos estándar distribuidos.
Degradación de la sonda.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla de amplificación.
Degradación del control positivo o estándar.	Utilizar una nueva alícuota de estándar.
Error en la programación del equipo.	Controlar la posición de las reacciones del estándar programada en el equipo. Controlar el ciclo térmico programado en el equipo.

ADN blanco detectado en la reacción de Control negativo	
Causas posibles	Soluciones
Error en la dispensación de la microplaca.	Evitar esparcir el contenido de las probetas de las muestras. Cambiar siempre el tip entre una muestra y la otra. Dispensar cuidadosamente muestras, control negativo y estándar en la microplaca siguiendo el plan de trabajo.
Error durante la programación del equipo.	Controlar la posición de muestras, control negativo y estándar programada en el equipo.
Microplaca mal cerrada.	Cerrar con cuidado la microplaca.
Contaminación del agua bidestilada estéril.	Utilizar una nueva alícuota de agua estéril.
Contaminación de la mezcla de amplificación.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla de amplificación.
Contaminación del área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.	Limpiar superficies e instrumentos con detergentes acuosos, lavar batas, sustituir probetas y tips en uso.

Presencia de fluorescencia de fondo irregular o elevada en las reacciones	
Causas posibles	Soluciones
Error en la dispensación de la muestra.	Mezclar cuidadosamente, pipeteando tres veces, muestras, control negativo y estándar en la mezcla de reacción. Evitar crear burbujas.
Error en la programación de la "baseline".	Programar el intervalo de cálculo de "baseline" en una zona de ciclos en la cual la fluorescencia de fondo ya se encuentre estabilizada (controlar los registros "Results", "Component") y que la fluorescencia de la señal no haya comenzado a crecer todavía, por ejemplo del ciclo 6 al ciclo 15. Programar el cálculo automático de la "baseline" seleccionando la opción "autobaseline".












DRA. SILVANA ZANELA
 DIRECTORA TÉCNICA
 14.4.21
 BIOSYSTEMS S.A.

CMV ELITE MGB® Kit
 reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

Presencia de curva de disociación anómala	
Causas posibles	Soluciones
Ausencia de un pico definido. Pico definido pero diferente del de otras muestras y de los estándares.	Controlar que el Ct del detector FAM sea inferior a 30. Cantidades elevadas de producto de amplificación presentes al finalizar la reacción pueden interferir en el análisis de la curva de disociación. Repetir la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de un ADN blanco con una posible mutación. Para confirmar la presencia de una mutación, se debería secuenciar el ADN blanco presente en la muestra.

SIGNIFICADO DE LOS SIMBOLOS

-  REF Número de catálogo.
-  Límite superior de temperatura.
-  LOT Código de lote.
-  Utilizar antes del último día del mes.
-  IVD Dispositivo médico diagnóstico *in vitro*.
-  CE 0344 Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos *in vitro*. Certificación otorgada por DEKRA Certification B.V., the Netherlands.
-  Σ Contenido suficiente para "N" test.
-  ¡ Atención, consultar las instrucciones de uso.
-  CONT Contenido.
-  Mantener alejado de la luz solar.
-  Fabricante.

532181



BioSystems S.A.

Lic. Alejandro Diaz
Modificado

CMV ELite MGB® Kit
reactivo por Amplificación Real Time del ADN de CMV

REF RTK015PLD

AVISO AL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto se vende sobre la base del contrato de licencia entre Epoch Biosciences, LLC y Life Technologies, inc.. El precio de compra de este producto incluye los derechos - limitados y no transferibles - de usar esta cantidad de producto, unicamente para las actividades del comprador que sean directamente relacionadas con el diagnóstico humano. Para obtener información sobre la adquisición de una licencia de este producto para fines diferentes a los definidos anteriormente, por favor comuníquese con el Departamento de Licencias de Life Technologies, Inc., 5791 Val Allen Way, Carlsbad, CA 92008. Correo electrónico: outlicensing@lifetech.com.

Los reactivos de detección ELITE MGB® están cubiertos por una o más patentes U.S. número 5,801,155; 6,127,121; 6,312,894; 6,426,408; 6,485,906; 6,492,346; 6,660,845; 6,699,975; 6,727,356; 6,790,945; 6,949,367; 6,972,328; 7,045,610; 7,319,022; 7,368,549; 7,381,818; 7,556,923; 7,662,942; 7,671,218; 7,715,989; 7,723,078; 7,759,126; 7,767,834; 7,794,945; 7,897,736; 8,008,522; 8,067,177; RE 38,416 y de las patentes EP 0819133, 1068358, 1144429, 1232157, 1261616 y 1789587, así como de solicitud de patentes que están actualmente pendientes.

La compra de este producto incluye una licencia limitada, no transferible y no exclusiva (sin derecho a revender, volver a empaquetar, o sublicenciar) sobre la base de las patentes U.S. número 6,030,787; 5,723,591 y 5,876,930 y las correspondientes patentes extranjeras, unicamente para usar este producto en un análisis en el que la detección de una secuencia de un ácido nucleico no incluya el corte de una sonda de ácido nucleico, con exclusión de cualquier otro propósito. Ninguna otra licencia en virtud de estas patentes o cualquier otra patente es concedida, expresamente, implícitamente o en forma excepcional.

Esta licencia limitada permite a la persona o entidad legal a la cual se proporcionó este producto, de usar el producto y los datos generados por el uso del producto, sólo para el diagnóstico humano. Ni ELITechGroup S.p.A., ni sus licenciadores conceden cualquier otra licencia, explícita o implícita para cualquier otro propósito.

Dra. SILVANA ZANELLA
DIRECTORA TÉCNICA
MN 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

Platinum® Tfi es una marca registrada de Life Technologies Inc.
«NucISENS® easyMAG®» son marcas registradas de bioMérieux.
«QIAAsynphony®» es una marca registrada de QIAGEN GmbH.
Ficol® es una marca registrada de GE Healthcare Bio-Sciences AB.



HOJA DE TRABAJO

Lic. Alejandro Diez
Propietario
Biosystems S.A.

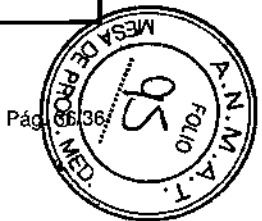
3

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


Dra. SIVITHA JANELA
DIRECTORA TECNICA
TEL: 14.421
BIOSYSTEMS S.A.

5328

✱



Lic. Alejandro Diez
Biosystems S.A.



ELITechGroup
MOLECULAR DIAGNOSTICS

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY

Oficinas: Tel. +39-011 978 181 Fax +39-011 938 76 11
E. mail: emd.support@elittechgroup.com
sitio WEB: www.elittechgroup.com

CMV ELITE Standard
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STD015PLD

MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación y etiquetado
CMV Q - PCR Standard 10 ⁴	solución de plásmido en probeta con tapón ROJO	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 ⁴	solución de plásmido en probeta con tapón AZUL	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 ³	solución de plásmido en probeta con tapón VERDE	1 x 200 µL	-
CMV Q - PCR Standard 10 ²	solución de plásmido en probeta con tapón AMARILLO	1 x 200 µL	-

CMV ELITE Standard
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STD015PLD



-20°C

INDICE

USO PREVISTO
PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO
MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES
PROCEDIMIENTO
BIBLIOGRAFÍA
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

pág. 1
pág. 1
pág. 2
pág. 2
pág. 2
pág. 2
pág. 3
pág. 4
pág. 4

USO PREVISTO

El producto «CMV ELITE Standard» se utiliza como control positivo y ADN estándar de cantidad conocida en las pruebas cuantitativas de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección y la cuantificación del ADN del Citomegalovirus humano (CMV) con el producto «CMV ELITE MGB® KIt» de ELITechGroup S.p.A.

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

El producto suministra los Q - PCR Standard, cuatro soluciones estabilizadas con título conocido de plásmido*, cada una dosificada en una probeta y listas para su uso. Cada probeta contiene 200 µL de solución, suficiente para ocho sesiones.

El plásmido contiene una región amplificada del exon 4 del gen MIEA de CMV. La detección del ADN blanco durante la reacción de amplificación real time confirma su capacidad para detectar la presencia del ADN de CMV y permite calcular la curva estándar.

El producto permite efectuar 8 sesiones analíticas distintas utilizando 20 µL por reacción.

La concentración del Q - PCR Standard se ha establecido utilizando materiales de referencia calibrados (QCMD 2009 Human Cytomegalovirus DNA EOA Panel, Onostics Ltd, Escocia, Reino Unido, y OptiQuant CMV-DNA, AcroMetrix Europe B.V., Países Bajos). Un Factor de conversión permite expresar los resultados cuantitativos en las Unidades Internacionales de CMV del "1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques" (NIBSC, Reino Unido, código 09/162).

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de látex o similares.
- Mezclador vortex.
- Microcentrífuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y tips estériles con filtro para aerosol o de dispensación positiva (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Agua bidestilada estéril.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia 7300 Real Time PCR System o 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument calibrado según las indicaciones del fabricante.

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

Los reactivos para la amplificación no están incluidos en este producto. Para realizar estas fases analíticas se aconseja la utilización de los siguientes productos accesorios producidos por ELITechGroup S.p.A.:

- «CMV ELITE MGB® KIt» (código RTS015PLD), mezcla de reacción completa y lista para su uso para la amplificación real time.
- «Q - PCR Microplates» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC01) microplacas con pocillos de 0,2 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time con un equipo 7300 Real-Time PCR System.
- «Q - PCR Microplates Fast» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC02) microplacas con pocillos de 0,1 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time con un equipo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo *in vitro*.

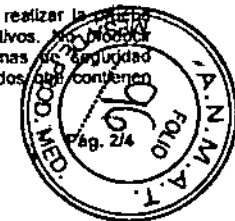
Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudiesen transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No producir salpicaduras ni aerosol. El material que está en contacto con las muestras biológicas debe ser tratado con hipoclorito de sodio al 3% por al menos 30 minutos o bien tratado en autoclave a 121°C durante una hora antes de ser eliminado.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales utilizados para realizar la prueba como si fuesen potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No producir salpicaduras ni aerosol. Los residuos deben ser tratados y eliminados según normas de seguridad adecuadas. El material combustible monouso debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben ser neutralizados antes de la eliminación.

Dra. SILVINA ZANELLA
DIRECCIÓN TÉCNICA
BIO SYSTEMS S.A.

5328



CMV ELITE Standard
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STD015PLD

- Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos / la cara.
- No pipetear con la boca ninguna solución.
- No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.
- Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.
- Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.
- Leer atentamente todas las instrucciones provistas en el producto antes de realizar la prueba.
- Respetar las instrucciones provistas en el producto durante la ejecución de la prueba.
- Respetar la fecha de caducidad del producto.
- Utilizar sólo los reactivos presentes en el producto y los aconsejados por el fabricante.
- No usar reactivos que provengan de lotes diferentes.
- No utilizar reactivos que provengan de productos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la transcripción inversa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, requieren personal competente e instruido para evitar el riesgo de resultados incorrectos, en particular a causa de la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o de la contaminación de las mismas por parte de productos de amplificación.

Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación o para la amplificación / detección de los productos de amplificación. Nunca introducir un producto de amplificación en el área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos destinados para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de productos de amplificación. Nunca transferir batas, guantes e instrumentos del área de extracción / detección de productos de amplificación al área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben ser destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las probetas que contengan muestras diferentes nunca deben ser abiertas al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosol. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los productos de amplificación deben ser manipulados en modo de limitar al máximo su dispersión en el ambiente para evitar contaminaciones. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben ser destinadas sólo a este uso.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes

El Q - PCR Standard debe ser congelado y descongelado por un máximo de ocho veces. Otros ciclos de congelación / descongelación podrían causar una pérdida de título.

El Q - PCR Standard no presenta frases de riesgo (R) y presenta los siguientes consejos de prudencia (S):

- S 23-25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos.

PROCEDIMIENTO

El producto «CMV ELITE Standard» debe ser usado con la mezcla completa de reactivo del producto «CMV ELITE MGB® Kit».

Antes de uso, extraer y descongelar las probetas de CMV Q - PCR Standard. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo.

CMV ELITE Standard
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STD015PLD

El Q - PCR Standard está listo para su uso, por lo tanto debe utilizarse agregándole 20 µL directamente a la mezcla de reacción.

El procedimiento completo, que prevé la preparación y la realización de una reacción de amplificación real time en microplaca con un termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia (thermal cycler para amplificación real time), se describe de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta al producto «CMV ELITE MGB® Kit».











Las características de las prestaciones y los límites del procedimiento de la prueba completa de detección y cuantificación del ADN de CMV se describen de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta al producto «CMV ELITE MGB® Kit».

Nota: El Q - PCR Standard debe ser congelado y descongelado por un máximo de **ocho veces**.

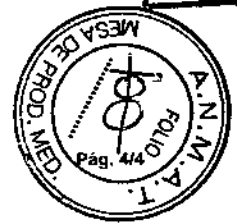
BIBLIOGRAFÍA

T. E. Fenner et al. (1991) *J Clin Microbiology* 29: 2621 - 2622

SIGNIFICADO DE LOS SIMBOLOS

-  Número de catálogo.
-  Límite superior de temperatura.
-  Código de lote.
-  Utilizar antes del último día del mes.
-  Dispositivo médico diagnóstico *in vitro*.
-  Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a dispositivos médicos diagnósticos *in vitro*.
Certificación otorgada por DEKRA Certification B.V., the Netherlands.
-  Contenido suficiente para "N" test.
-  Atención, consultar las instrucciones de uso.
-  Contenido.
-  Fabricante.

Refutado Nº 5228
Ofic. de Productos Médicos





ELITechGroup

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY
Oficinas: Tel. +39-011 876 18 Fax +39-011 838 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
Site WEB: www.elitechgroup.com

CPE - Internal Control

control interno en las extracciones de ADN y de ARN

REF CTRCPE
CTRCPe/2



-20°C

INDICE

USO PREVISTO
PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO
MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES
PROCEDIMIENTO
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

pág. 1
pág. 1
pág. 2
pág. 2
pág. 2
pág. 3
pág. 4
pág. 6

IMPORTANTE

→ «ELITE STAR 200 Extracción Kit» (código INT011EX), kit de extracción de ADN y ARN de muestras celulares y no celulares, junto con el instrumento «ELITE STAR Instrument» (código INT010), denominado ELITE STAR, constituyen el ELITE STAR System.
→ «ELITE GALAXY 300 Extracción Kit» (código INT021EX); kit de extracción de ADN y ARN de muestras celulares y no celulares, junto con el instrumento «ELITE GALAXY Instrument» (código INT020), denominado ELITE GALAXY, constituyen el ELITE GALAXY System.

USO PREVISTO

El producto «CPE - Internal Control» (Control Positivo de Extracción) se utiliza como control interno en las extracciones de ADN y ARN de muestras biológicas no celulares y celulares con los productos de ELITechGroup S.p.A. «EXTRAGEN», «EXTRAZOL», «EXTRABLOOD», «ELITE STAR 200 Extracción Kit» y «ELITE GALAXY 300 Extracción Kit».

El producto también se utiliza como control interno en las extracciones de ADN y ARN de muestras biológicas no celulares y celulares realizadas con los productos «NucliSENS[®] easyMAG[®] Reagents» (BioMérieux SA), «QIASymphony[®] DSP Virus / Pathogen Mtdl Kit» (QIAGEN GmbH) y «QIASymphony[®] DNA Mini Kit» (QIAGEN GmbH).

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

El producto provee el CPE, una mezcla estable de ADN plasmídico y de ARN genómico de fago MS2, dosificada en cuatro probetas y lista para su uso. Cada probeta contiene 160 µL de solución.

CPE Internal Control
control interno en las extracciones de ADN y de ARN

REF CTRCPE
CTRCPe/2

El primer ADN plasmídico contiene la región promotora 5' UTR del gen humano de la beta globina amplificada como control interno en los productos de la serie «Q - PCR Alert Kit» y «ELITE MGB[®] Kit».

El segundo ADN plasmídico contiene una secuencia de ADN artificial que es el blanco de la reacción de amplificación del control interno de algunos productos de la serie «ELITE MGB[®] Kit» de ELITechGroup S.p.A.

El ARN genómico de fago MS2 contiene la región amplificada como control interno en los productos de la serie «Q - PCR Alert kit» y «ELITE MGB[®] Kit» de ELITechGroup S.p.A.

La detección del ADN blanco o del ADNc blanco de la reacción de amplificación del control interno indica que la extracción ha sido correctamente realizada (presencia de ADN o ARN y ausencia de inhibidores en el producto de extracción).

EXTRACCIÓN MANUAL

Cuando se utilizan los productos genéricos para la extracción manual de los ácidos nucleicos «EXTRAGEN», «EXTRAZOL» y «EXTRABLOOD», el producto es suficiente para 100 extracciones (código CTRCPE).

EXTRACCIÓN AUTOMÁTICA

Cuando se utiliza el producto genérico para la extracción automática de los ácidos nucleicos «ELITE STAR 200 Extracción Kit», el producto es suficiente para 36 extracciones.

Cuando se utiliza el producto genérico para la extracción automática de los ácidos nucleicos «ELITE GALAXY 300 Extracción Kit», el producto es suficiente para 40.

MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Producto código CTRCPE

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación y etiquetado
CPE	solución de plásmido de ADN y ARN genómico de fago MS2	4 x 160 µL	

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de látex o similares.
- Probetas de polipropileno estériles para microcentrífuga (1,5 mL).
- Tubos estériles de polipropileno para centrífuga (50 mL).
- Mezclador tipo vortex.
- Microcentrífuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y tips estériles con filtro para aerosol o de dispensación positiva (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

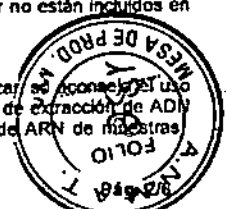
Los reactivos para la extracción del ADN y del ARN de las muestras a analizar no están incluidos en este producto.

EXTRACCIÓN MANUAL

Para la extracción manual de los ácidos nucleicos de las muestras para analizar, se aconseja el uso de los productos genéricos ELITechGroup S.p.A. «EXTRAGEN» (código EXTG01), kit de extracción de ADN y ARN de muestras no celulares, «EXTRAZOL» (código EXTR01), kit de extracción de ARN de muestras

LIC. Antonio Diez
V. Arguedas
Biosystems S.A.

5328



celulares y no celulares «EXTRAblood» (código EXTB01), kit de extracción de ADN de muestras celulares y no celulares.

EXTRACCIÓN AUTOMÁTICA

Para la extracción automática de los ácidos nucleicos de las muestras para analizar, se aconseja el uso de ELITE STAR System o de ELITE GALAXY System.

La extracción automática de los ácidos nucleicos puede realizarse con el producto genérico bioMérieux SA «NucliSENS® easyMAG® Reagents» (códigos 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135), kit de extracción de ADN y ARN de muestras biológicas celulares y no celulares, junto con el instrumento «NucliSENS® easyMAG®» (código 200111).

La extracción automática de los ácidos nucleicos puede realizarse con el producto genérico QIASymphony® DSP Virus / Pathogen Midi kitGEN GmbH «QIASymphony® DSP Virus / Pathogen Midi kit» (código 937055), kit de extracción de ADN y ARN de muestras biológicas no celulares, o «QIASymphony® DNA Mini kit» (código 931236), kit de extracción de ADN de muestras biológicas celulares, junto con el instrumento «QIASymphony® SP/AS» (códigos 9001297, 9001301) y sus respectivos productos genéricos (códigos 997024, 990332, 997120, 997002, 997004, 19588).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo *in vitro*.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudiesen transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No producir salpicaduras ni aerosol. El material que está en contacto con las muestras biológicas debe ser tratado con hipoclorito de sodio al 3% por al menos 30 minutos o bien tratado en autoclave a 121°C durante una hora antes de ser eliminado.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales usados para realizar la prueba como si fuesen agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No producir salpicaduras ni aerosol. Los residuos deben ser tratados y eliminados según normas de seguridad adecuadas. El material combustible monouso debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben ser neutralizados antes de la eliminación.

Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos o la cara.

No pipetear con la boca ninguna solución.

No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.

Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.

Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.

Leer atentamente todas las instrucciones provistas en el producto antes de realizar la prueba.

Respetar las instrucciones provistas en el producto durante la ejecución de la prueba.

Respetar la fecha de caducidad del producto.

Utilizar sólo los reactivos presentes en el producto y los aconsejados por el fabricante.

No usar reactivos que provengan de lotes diferentes

No utilizar reactivos que provengan de productos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la transcripción inversa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, requieren personal competente e instruido para evitar el riesgo de resultados incorrectos, en particular a causa de la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o de la contaminación de las mismas por parte de productos de amplificación.

Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación o para la amplificación / detección de los productos de amplificación. Nunca introducir un producto de amplificación en el área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos destinados para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de productos de amplificación. Nunca transferir batas, guantes e instrumentos del área de amplificación / detección de productos de amplificación al área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben ser destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las probetas que contengan muestras diferentes nunca deben ser abiertas al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosol. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los productos de amplificación deben ser manipulados en modo de limitar al máximo su dispersión en el ambiente para evitar contaminaciones. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben ser destinadas sólo a este uso.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes

El CPE debe ser congelado y descongelado por un máximo de doce veces. Otros ciclos de congelación/ descongelación podrían causar una pérdida de título.

El CPE no presenta frases de riesgo (R) y presenta los siguientes consejos de prudencia (S):

S 23-25. No respirar los gases/humos/vapores/aerosoles. Evitar el contacto con los ojos.

PROCEDIMIENTO

El producto «CPE - Internal Control» debe utilizarse con los productos genéricos de extracción manual de los ácidos nucleicos «EXTRAgens», «EXTRAzol» y «EXTRAblood», y con los productos genéricos de extracción automática de los ácidos nucleicos «ELITE STAR 200 Extraction Kit» y «ELITE GALAXY 300 Extraction Kit».

El producto «CPE - Internal Control» puede utilizarse con los productos genéricos de extracción automática de los ácidos nucleicos NucliSENS® easyMAG® Reagents», «QIASymphony® DSP Virus / Pathogen Midi kit» y «QIASymphony® DNA Mini kit».

El CPE está listo para su uso, por lo tanto, debe ser utilizado directamente como se describe a continuación.

EXTRACCIÓN MANUAL

Quando se realiza la extracción manual del ADN o del ARN con los kit de extracción «EXTRAgens», «EXTRAzol» y «EXTRAblood», depositar 5 µL de CPE en cada probeta de extracción, como se indica en el manual de instrucciones de cada producto de extracción.

EXTRACCIÓN AUTOMÁTICA

ELITE STAR

Quando se realiza la extracción automática de los ácidos nucleicos con ELITE STAR System, utilizar el protocolo de extracción UUNI_E100_S200 y seguir estas indicaciones: el ELITE STAR tiene la capacidad de utilizar directamente el tubo primario, el volumen de muestra retirado para la extracción es de 200 µL, siempre se requiere un volumen muerto de 200 - 400 µL, dependiendo del tipo de tubo primario. Siguiendo las instrucciones presentes en el Manual de instrucciones de uso del kit de extracción, reconstituir las proteínas K / carrier (PK) con 600 µL de agua ultrapura y 200 µL de CPE (suficiente para 12 muestras). De acuerdo con las instrucciones del Manual del instrumento y del kit, cargar en el ELITE STAR el tubo que contiene la solución reconstituida y continuar con el procedimiento de extracción. El volumen de elución es de 100 µL (la elución se realiza en 115 µL, de los cuales solo se recuperan 100 µL).

ELITE GALAXY

Quando se realiza la extracción automática de los ácidos nucleicos con ELITE GALAXY System, utilizar el protocolo de extracción xNA Extraction (Universal) y seguir estas indicaciones: ELITE GALAXY System tiene la capacidad de utilizar directamente el tubo primario, el volumen de muestra retirado para la extracción es de 300 µL, siempre se requiere un volumen muerto de 100 - 400 µL, dependiendo del tipo de tubo primario. Siguiendo las instrucciones presentes en el Manual de uso del kit de extracción, reconstituir la PK con 2,4 mL de PK Buffer. Reconstituir el Carrier con 450 µL de Carrier buffer y preparar una solución con 1/3 de Carrier y 2/3 de CPE. De acuerdo con las instrucciones del Manual del kit y del instrumento,

lic. M. J. Diez
Biosystems S.A.

DR. SYLVIA CANELA
DIRECTORA TÉCNICA
BIOSYSTEMS S.A.

5328
M. J. Diez
11/07/13
Pág. 4/6

cargar en este último reactivos y material consumible y continuar con el procedimiento de extracción. El volumen de elución es de 200 µL (la elución se realiza en 210 µL, de los cuales solo se recuperan 200 µL).

NucliSENS

Quando se extrae ADN de muestras biológicas no celulares con el producto genérico «NucliSENS® easyMAG® Reagents» y el equipo «NucliSENS® easyMAG®» utilizar el protocolo de extracción Genérico 2.0.1 y respetar las siguientes indicaciones: distribuir 500 µL de la muestra en la Strip de 8 pocillos; cargar la Strip en el equipo e iniciar la extracción. Agregar 5 µL / muestra de CPE para el control interno antes de agregar la EasyMAG® Magnetic Silica al contenido de la Strip con la pipeta multicanal, continuar con la extracción y recuperar el ADN con 100 µL de tampón de elución.

Quando se extrae ADN de muestras biológicas celulares con el producto genérico «NucliSENS® easyMAG® Reagents» y el instrumento «NucliSENS® easyMAG®», utilizar el protocolo de extracción Genérico 2.0.1 y respetar estas indicaciones: distribuir 100 µL de muestra en la Strip de 8 pocillos; cargar la Strip en el instrumento e iniciar la extracción sin incubación para la lisis. Después de que el instrumento agregue el EasyMAG® Lysis Buffer, mezclar directamente tres veces en el instrumento el contenido de la Strip con la pipeta multicanal suministrada, utilizando el programa 3, y dejar incubar por 10 minutos. Al finalizar los 10 minutos de incubación, agregar 5 µL / muestra de CPE antes de agregar el EasyMAG® Magnetic Silica al contenido de la Strip con la pipeta multicanal y el programa 3, continuar con la extracción. Recuperar el ADN con 50 µL de tampón de elución.

QIASymphony

Quando se realiza la extracción de los ácidos nucleicos con el kit «QIASymphony® DSP Virus / Pathogen Midi kit», y el instrumento «QIASymphony® SP/AS» con versión de software 3.5, utilizar el protocolo de extracción "Virus Cell free 500_V3_DSP_default IC" y seguir estas indicaciones: el instrumento tiene la capacidad de utilizar directamente el tubo primario, el volumen de muestra retirado para la extracción es de 500 µL, siempre se requiere un volumen muerto de 100 - 400 µL, dependiendo del tipo de tubo primario. En función de las instrucciones del Manual de uso del kit de extracción, preparar las alícuotas de buffer ATE. Agregar a la solución 6 µL de CPE para cada muestra requerida. Cargar en el instrumento, en la posición prevista para las probetas "control interno", las probetas que contienen la solución, como se indica en el Manual de instrucciones de uso del kit; indicar la posición en la cual se distribuirán los eluatos y especificar el volumen de elución de 85 µL (la elución se produce en 115 µL efectivos, de los cuales se recuperan 85 µL).











Quando se realiza la extracción de los ácidos nucleicos con el kit «QIASymphony® DNA Mini kit», y el instrumento «QIASymphony® SP/AS» con versión de software 3.5, utilizar el protocolo de extracción "Virus Blood_200_V4_default IC" y seguir estas indicaciones: el instrumento tiene la capacidad de utilizar directamente el tubo primario, el volumen de muestra retirado para la extracción es de 200 µL, siempre se requiere un volumen muerto de 100 - 400 µL, dependiendo del tipo de tubo primario. En función de las instrucciones del Manual de uso del kit de extracción, preparar las alícuotas de buffer ATE. Agregar a la solución 6 µL de CPE para cada muestra requerida. Cargar en el instrumento, en la posición prevista para las probetas "control interno", las probetas que contienen la solución, como se indica en el Manual de instrucciones de uso del kit; indicar la posición en la cual se distribuirán los eluatos y especificar el volumen de elución de 80 µL (la elución se produce en 90 µL efectivos, de los cuales se recuperan 60 µL).

Los procedimientos completos, que prevén la preparación y la realización de la extracción del ADN o del ARN, se describen de manera detallada en los manuales de instrucciones de uso que acompañan a los productos «EXTRAGEN», «EXTRAzol», «EXTRAblood», «ELITE STAR 200 Extraction Kit», «ELITE GALAXY 300 Extraction Kit», «NucliSENS® easyMAG® Reagents», «QIASymphony® DSP Virus / Pathogen Midi kit» y «QIASymphony® DNA Mini kit».

Las características de las prestaciones y los límites de los procedimientos relativos a la extracción de los ácidos nucleicos y a las pruebas completas de la sene «Q - PCR Alert kit» y «ELITE MGB® kit» se describen de manera detallada en los manuales de instrucciones de uso que acompañan a los productos.

Nota: El reactivo CPE puede ser congelado y descongelado hasta doce veces.

SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

-  Número de catálogo.
-  Límite superior de temperatura.
-  Código de lote.
-  Utilizar antes del último día del mes.
-  Dispositivo médico diagnóstico *in vitro*.
-  Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos *in vitro*.
-  Contenido suficiente para "N" test.
-  Atención, consultar las instrucciones de uso.
-  Contenido.
-  Fabricante.

BioSystems S.A.

Dir. Silvia FANELA
DIRECCIÓN TÉCNICA
BIOSTEMS S.A.

5328



5328



	Av. Dorrego 673 1414 - Buenos Aires Tel.: 54-11-4854-7775 Fax: 54-11-4857-0884 e-mail: info@biosystems.com.ar	
--	---	--

PROYECTOS DE ROTULO

1 - Nombre del producto:

RTK015PLD

➤ **PROYECTO DE ROTULO EXTERNO**

XXXXXXXXXX (17) UMMYYXX

0303881483937

<http://www.elitechgroup.com/corporate/fin-emd>

00 800 135 78 135

0344

CE IVD

20°C

100

CONY

RTK015PLD CMV O. PCR Mix 2 x 640 µL

RTK015PLD-D.1, Rev.01

ELITechGroup S.p.A.
 Cas. Sestera, 155 - 10138 Torino - Italy
 Tel. +39 011 438761 - Fax +39 011 438762

Lic. Alejandro Diez
 Apoderado
 BioSystems S.A.

Dra. SILVANA ZANELA
 DIRECTORA TECNICA
 MN 14 421
 BIOSYSTEMS S.A.



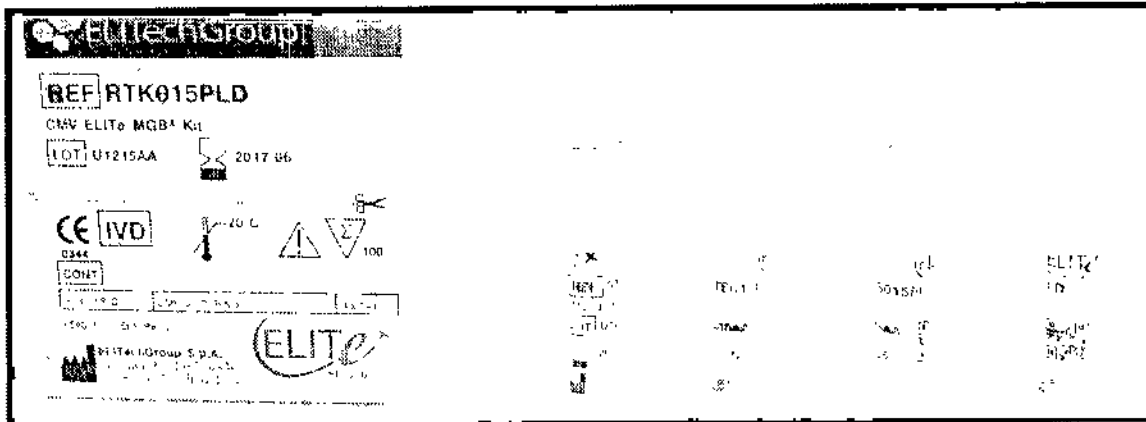
Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (54-11) 4854-7775
 Directora Técnica: Silvina Zanela MN 14421
 Producto para diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:

[Handwritten mark]

➤ PROYECTO DE ROTULO INTERNO

REF RTS015PLD
CMV Q - PCR MIX
LOT P0000XX **CE** 0344
 2000/00 **IVD**
 ELITeGroup S.p.A.
 Casa Sordani, 165 - 10143 Torino - ITALY
 Tel: +39011970191 - Fax: +390119357611

Imagen



[Handwritten mark]

[Signature]
 Lic. Alejandro Diez
 Abogado
 BioSystems S.A.

[Signature]
 Dra. SILVINA ZANELA
 DIRECTORA TECNICA
 MN 14421
 BIOSYSTEMS S.A.

5328



➤ PROYECTO DE ROTULO EXTERNO

XXXXXXXXXX (1) 120121 (2) (1)

1 6 6 8 8 1 4 8 8 0 0 8

<http://www.elitechgroup.com/controles/ifu-ame>

00 800 135 79 135 (Número: 00800 181 22037159)

Para asistencia por teléfono
 Para asistencia por correo electrónico
 Para asistencia por fax

CMV ELITE STD IFU REV. 04

REF STD015PLD
 CMV ELITE Standard

LOT UMMYYXX 2017/01

CE IVD 20°C

CONT

STD015PLD-2	CMV Q - PCR Standard 10 ^{7.5}	1 x 200 µL
STD015PLD-4	CMV Q - PCR Standard 10 ^{7.5}	1 x 800 µL
STD015PLD-1	CMV Q - PCR Standard 10 ^{7.5}	1 x 300 µL
STD015PLD-3	CMV Q - PCR Standard 10 ^{7.5}	1 x 200 µL

STD015PLD-2 1, Rev 01

ELITechGroup S.p.A.
 Via Salaria, 221 - 00144 Roma - ITALY
 Tel. +39 06 17471 - Fax +39 06 17472

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL: (54-11) 4854-7775
 Directora Técnica: Silvina Zanela MN 14421
 Producto para diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:

[Signature]
 Lic. Alejandro Diez
 Abogado
 BioSystems S.A.

[Signature]
 Dra. SILVINA ZANELA
 DIRECTORA TÉCNICA
 MN 14.421
 BIOSYSTEMS S.A.

3328



➤ PROYECTO DE ROTULO INTERNO

REF STD015PLD-2
 CMV G - PCR Standard 10²
LOT PMMYXX
 2017/01
 ELITechGroup S.p.A.
 Via Salaria 145, 00148 Roma, ITALY

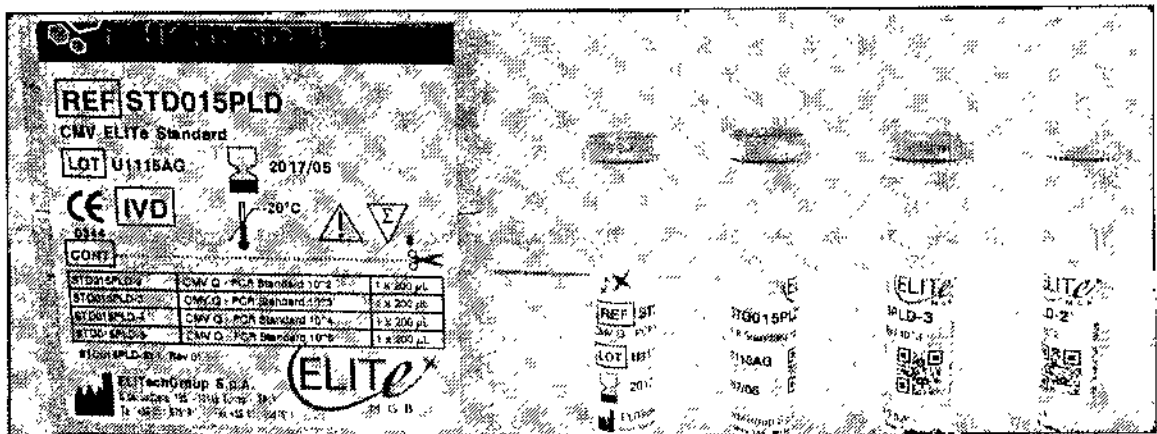
REF STD015PLD-3
 CMV G - PCR Standard 10³
LOT PMMYXX
 2017/01
 ELITechGroup S.p.A.
 Via Salaria 145, 00148 Roma, ITALY

REF STD015PLD-4
 CMV G - PCR Standard 10⁴
LOT PMMYXX
 2017/01
 ELITechGroup S.p.A.
 Via Salaria 145, 00148 Roma, ITALY

REF STD015PLD-5
 CMV G - PCR Standard 10⁵
LOT PMMYXX
 2017/01
 ELITechGroup S.p.A.
 Via Salaria 145, 00148 Roma, ITALY

Handwritten signature

Imagen

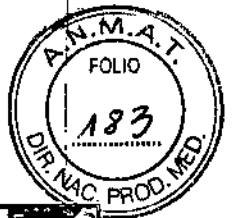


Handwritten mark

Lic. Alejandro Diez
 Apoderado
 BioSystems S.A.

Dra. SILVANA ZANELLA
 DIRECTORA TECNICA
 N° 14 421
 BIOSYSTEMS S.A.

5 3 2 8



	<p>Av. Dorrego 673 1414 - Buenos Aires Tel.: 54-11-4854-7775 Fax: 54-11-4857-0884 e-mail: info@biosystems.com.ar</p>	
--	--	--

PROYECTOS DE ROTULO

✓ **PROYECTO DE ROTULO EXTERNO**

Importado por:
BioSystems S.A
 Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
 TEL:(54-11)4854-7775
 Directora Técnica: Silvina Zanela MN 14421
 Producto para diagnóstico de uso In Vitro
 Uso Profesional Exclusivo
 Autorizado por ANMAT
 Certificado N°:

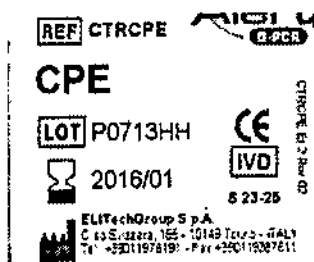
Lic. Alejandro Diez
 Apoderador
 BioSystems S.A.

Dra. SILVINA ZANELA
 DIRECTORA TÉCNICA
 MN 14.421
 BIOSYSTEMS S.A.

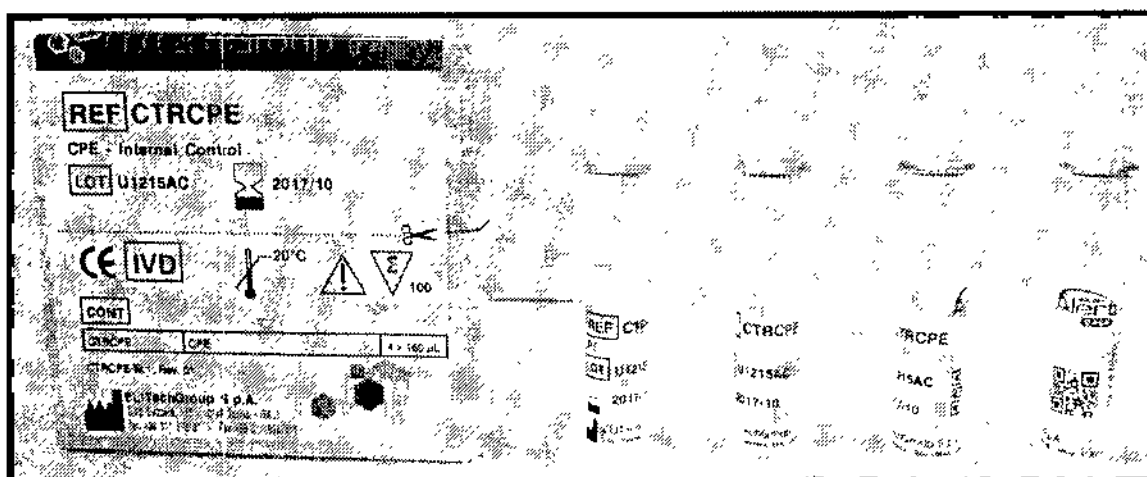


5328

➤ PROYECTO DE ROTULO INTERNOS



Imagen



E

Lic. Mercedes Diez
Arce
BioSystems S.A.

Dra. SILVANA Z...
DIRECTORA T...
MAY 14 2017
BIOSYSTEM...

d



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

CERTIFICADO DE AUTORIZACION DE VENTA
DE PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº:1-47-3110-3448/15-9

Se autoriza a la firma BIOSYSTEMS S.A. a importar y comercializar el Producto para Diagnóstico de uso "in vitro" denominado CMV ELITE MGB KIT/ prueba cualitativa y cuantitativa de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del ADN del Citomegalovirus humano (CMV) en muestras de ADN extraído de sangre entera recolectada con EDTA, plasma extraido con EDTA, líquido cefalorraquídeo, orina, en envases para 100 determinaciones; Componentes del kit CMV Q-PCR MIX, Código RTS015 PLD.....

Componente	Descripción	Cantidad
CMV Q-PCR Mix	Mezcla completa de reacción	4x 540µl

Componentes del kit completo: CMV Q-PCR standard, código STD015 PLD;

Componente	Descripción	Cantidad
CMV Q- PCR Standard 10 ⁵	Solución de plásmido en probeta con tapón rojo	1x 200µl
CMV Q- PCR Standard 10 ⁴	Solución de plásmido en probeta con tapón azul	1x 200µl
CMV Q- PCR Standard 10 ³	Solución de plásmido en probeta con tapón verde	1x 200µl
CMV Q- PCR Standard 10 ²	Solución de plásmido en probeta con tapón negro	1x 200µl

	tapón amarillo	
--	----------------	--

Componentes del kit completo CPE- Internal Control, código CTCRCPE

Componente	Descripción	Cantidad
CPE	Solución de plásmido para el control interno de inhibición	4 x 160µl

.Se le asigna la categoría: Venta a laboratorios de Análisis clínicos por hallarse comprendido en las condiciones establecidas en la Ley 16.463, y Resolución M.S. y A.S. Nº 145/98. Lugar de elaboración: Elitech Group S.p.A., Italia. Periodo de vida útil: 18 (DIECIOCHO) meses conservado a -20 °C. En las etiquetas de los envases, anuncios y Manual de instrucciones deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO DE USO "IN VITRO" USO PROFESIONAL EXCLUSIVO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA.

Certificado nº: **008415**

ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA.

Buenos Aires, **3 MAY 2016**

Dr. ROBERTO LEDE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

Firma y sello