



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001573-24-8

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-001573-24-8 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Bodiagnóstico S.A. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: Ensayo por PCR en Tiempo Real para la detección de la mutación de la atrofia muscular espinal (AME) a partir de manchas de sangre seca de neonatos.

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

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

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

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

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

Por ello;

LA ADMINISTRADORA NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: Ensayo por PCR en Tiempo Real para la detección de la mutación de la atrofia muscular espinal (AME) a partir de manchas de sangre seca de neonatos, de acuerdo con lo solicitado por Biodiagnóstico S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2024-55999093-APN-DVPCYAR#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 1201-420 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5º.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Ensayo por PCR en Tiempo Real para la detección de la mutación de la atrofia muscular espinal (AME) a partir de manchas de sangre seca de neonatos

Marca comercial: ZenTech

Modelos:

- 1) Targeted qPCR SMA (Código K-LT-480)
- 2) Targeted qPCR SMA FLEX (Código K-MF-480)

Indicación/es de uso:

- 1) El kit Targeted qPCR SMA se ha desarrollado para permitir la detección de pacientes afectados con atrofia

muscular espinal (homocigotos de la mutación en el gen SMN1). El Targeted qPCR SMA es un ensayo cualitativo por PCR a partir de muestras de sangre entera recogidas en papel

2) El kit Targeted qPCR SMA FLEX ha sido desarrollado para permitir la detección de pacientes afectados de atrofia muscular espinal (homocigotos para la mutación en el gen SMN1). El Targeted qPCR SMA FLEX es un ensayo cualitativo por PCR a partir de muestras de sangre entera recogidas en papel

Forma de presentación: 1) Targeted qPCR SMA: Presentación : Caja (kit) para 480 determinaciones

Componentes del kit

- Placas recubiertas con Master Mix 5 placas x 96 pocillo . Las placas contienen la mezcla de reacción necesaria para la amplificación por PCR del ácido nucleico AME cebadores/sondas y polimerasa para amplificación PCR
- Control Positivo Externo (CPE) SMA 1 frasco por 100 µl Contiene mezcla de ADN sintético con secuencia del gen SMN1 reconocido por los cebadores y las sondas HEX y FAM.
- Buffer de Lisis : 5 frascos por 8 ml . Contiene NaOH < 2% y EDTA cc < 1%
- Buffer de extracción: 5 frascos por 8 ml Contiene HCl cc < 2%
- Láminas selladoras de placas: 5 . Contiene plástico adhesivo

2) Targeted qPCR SMA FLEX Presentación : Caja (kit) para 480 determinaciones

Componentes del kit

- Master Mix : 10 frascos por 950 µl Contiene la mezcla de reacción necesaria para la amplificación por PCR del ácido nucleico AME cebadores/sondas y polimerasa para amplificación PCR
- Control Positivo Externo (CPE) SMA 1 frasco por 100 µl Contiene mezcla de ADN sintético con secuencia del gen SMN1 reconocido por los cebadores y las sondas HEX y FAM
- Buffer de Lisis : 5 frascos por 8 ml . Contiene NaOH < 2% y EDTA cc < 1%
- Buffer de extracción: 5 frascos por 8 ml Contiene HCl cc < 2%

Período de vida útil y condición de conservación: 1)y2) Vida útil 15 meses . Condiciones de conservación Almacene el kit a -20°C (no en un freezer no-frost).Deje los componentes del kit en la caja para guardarlos. Los reactivos sin abrir conservan su reactividad hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No utilice los reactivos en una fecha posterior a la fecha de caducidad indicada. Una vez abiertos y consumidos los componentes, deben desecharse y no volver a congelarse.

Nombre del fabricante:

ZenTech s.a.

Lugar de elaboración:

Liège Science Park, Avenue du Pré-Aily, 10,4031 Angleur Belgium

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

1-0047-3110-001573-24-8

Nº Identificador Trámite: 57126

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta Maria
Date: 2024.06.03 18:28:45 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.03 18:28:47 -03:00



Targeted qPCR SMA

K-LT-480

English	(en)
Français	(fr)
Deutsch	(de)
Español	(es)
Nederlands	(nl)

ZenTech s.a.

Liège Science Park - Avenue Pré Aily, 10 - 4031 ANGLEUR, Belgium
Tel. : + 32-(0)4-361.42.32 - Fax : + 32-(0)4-367.00.63

info@zentech.be
www.zentech.be


Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

ISO15223	MEDICAL DEVICES SYMBOL	SYMBOLES DISPOSITIFS MÉDICAUX	SYMBOLE AUF MEDIZINPRODUKTEN	SÍMBOLOS DE PRODUCTOS SANITARIOS	SYMBOOL MEDISCHE HULPMIDDELEN
	STORAGE TEMPERATURE LIMITATION	LIMITE DE LA TEMPERATURE DE STOCKAGE	LAGERTEMPERATURGRENZE	LÍMITE DE TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN	BEPERKING VAN OPSLAGSTEMPERATUUR
LOT	BATCH CODE	CODE DE LOT	CHARGENNUMMER	CÓDIGO DE LOTE	BATCHCODE
	USE BY	DATE LIMITE D'UTILISATION	VERWENDBAR BIS	USAR ANTES DE	HOUDBAARHEIDSDATUM
	CONSULT OPERATING INSTRUCTIONS	CONSULTER LE MODE D'EMPLOI	GEBRAUCHSANWEISUNG BEACHTEN	CONSULTE LAS INSTRUCCIONES DE USO	GEBRUIKSAANWIJZING RAADPLEGEN
IVD	<i>IN VITRO</i> DIAGNOSTIC DEVICE	DISPOSITIF DE DIAGNOSTIC <i>IN VITRO</i>	<i>IN-VITRO</i> -DIAGNOSTIKUM	DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO <i>IN VITRO</i>	<i>IN-VITRO</i> DIAGNOSTISCH HULPMIDDEL
	MANUFACTURED BY	FABRICANT	HERSTELLER	FABRICADO POR	VERVAARDIGD DOOR
REF	CATALOGUE NUMBER	NUMERO DE REFERENCE	BESTELNUMMER	NÚMERO DE CATÁLOGO	CATALOGUSNUMMER

	SYMBOLS (EDMA recommendations)	SYMBOLES (recommandations EDMA)	SYMBOLE (Empfehlungen der EDMA)	SIMBOLOS (Recomendaciones de la EDMA)	SYMBOLEN (aanbevelingen EDMA)
	Number of determinations (480)	Nombre de déterminations (480)	Anzahl der Bestimmungen (480)	Número de determinaciones (480)	Aantal bepalingen (480)
LYSIS SOLUTION	Lysis Solution	Solution de lyse	Lyselösung	Solución de lisis	Lysisoplossing
EXT BUF	Extraction buffer	Tampon d'extraction	Extraktionspuffer	Tampón de extracción.	Extractiebuffer
MASTERMIX MTP	Mastermix	Master Mix	Mastermix	Mastermix	Mastermix
CONTROL	Synthetic DNA	ADN synthétique	Synthetische DNA	ADN sintético	Synthetisch DNA
PS PCR	Plate sealer for PCR	Scellant de plaque pour PCR	Plattenversiegler für PCR	Adhesivo para microplacas para PCR	Plaatafdichter voor PCR


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

ESPAÑOL

Ensayo qPCR para la detección de la mutación de la AME a partir de manchas de sangre seca de neonatos.

K-LT-480: 5x96 pruebas

SOLO PARA EL DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. USO PREVISTO

El kit Targeted qPCR SMA se ha desarrollado para permitir la detección de pacientes afectados con atrofia muscular espinal (homocigotos de la mutación en el gen SMN1).

El Targeted qPCR SMA es un ensayo cualitativo.

2. USO CLÍNICO

La AME es una enfermedad autosómica recesiva causada por una deleción en el 7º exón del gen SMN1. Los homocigotos mutados están afectados y los heterocigotos son portadores.

3. 8. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El kit Targeted qPCR SMA está diseñado para genotipar el sitio de mutación asociado a la AME sin diferenciar entre heterocigoto y tipo salvaje y se proporciona en un formato MasterMix de uso sencillo.

El kit Targeted qPCR SMA se ha desarrollado, en primer lugar, para extraer el ADN de la sangre en papel de filtro 903 o 226 (mancha de sangre seca) y para, en segundo lugar, amplificar el alelo de tipo salvaje de la secuencia SMN1 dando como resultado una señal FAM fluorescente y para amplificar el gen constitutivo (RPP30) que da como resultado una señal HEX fluorescente. Una muestra sana (homocigota) y heterocigota producirá una señal FAM y HEX, una muestra afectada producirá solo una señal HEX.

Los resultados se expresan en relación con la RFU obtenida para la señal FAM y la RFU obtenida para la señal HEX.

El kit Targeted qPCR SMA incluye controles positivos y negativos.

4. REACTIVOS SUMINISTRADOS CON EL KIT

Una caja contiene:

Reactivo	Cantidad	Almacena miento	Estado físico	Gráfico
MasterMix/ MTP	5 MTP	-20°C	Listo para usar	-
Control EPC de la AME (tapa azul)	1x100 µL	-20°C	Listo para usar	-
Solución de lisis (tapa blanca)	5x8 mL	-20°C	Listo para usar	
Tampón de extracción (tapa blanca)	5x8 mL	-20°C	Listo para usar	

- Las microplacas contienen la mezcla de reacción necesaria para la amplificación por PCR de la AME.
- El control EPC contiene ADN sintético que es reconocido por los cebadores y las sondas HEX y FAM.
- Solución de lisis.
- Tampón de extracción.
- Adhesivo de microplacas para PCR (referencia Biorad MSB1001).

5. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL KIT

Almacene el kit a -20°C (no en un congelador no-frost). Deje los componentes del kit en la caja para guardarlos. Los reactivos sin abrir conservan su reactividad hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No utilice los reactivos en una fecha posterior a la fecha de caducidad indicada. Una vez abiertos y consumidos los componentes, deben desecharse y no volver a congelarse.

La microplaca para PCR es de un solo uso.

6. MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- Pipetas automáticas monocanal o multicanal para suministrar volúmenes de 2 µL con una precisión de ± 1,5%.
- Pipetas automáticas monocanal o multicanal para suministrar volúmenes de 50 µL con una precisión de ± 1,5%.
- Pipetas automáticas monocanal o multicanal para suministrar volúmenes de 100 µL con una precisión de ± 1,5%.
- Una perforadora que produce discos de 3,2 mm (1/8") o 3 mm.
- Instrumento: Biorad CFX96 Touch™
- Puntas de pipeta sin ADNasa con filtros.
- Mezclador de vórtex.
- Centrifugadora para el centrifugado de las microplacas.
- Horno que pueda alcanzar al menos 95°C.
- Microplaca de extracción de 96 pocillos (ej: ref. 0030 601 106 de Eppendorf o ref. QU CORN 3369 de Corning).
- Equipo de protección personal (guantes sin talco adecuados para la manipulación de muestras biológicas, bata de laboratorio, gafas).
- Tarjetas de toma de muestras de sangre. La información mínima preimpresa necesaria es:
 - nombre del niño/a.
 - nombre de la madre.
 - número de identificación del paciente.
 - fecha de nacimiento.
 - sexo.
 - fecha de recogida de la muestra.
 - identidad y dirección del remitente.
 - nombre y número de teléfono del médico.
 - fabricante y número de lote del filtro indicados en el papel.
- El papel de filtro debe ser únicamente 903 (Whatman) o 226 (Ahlstrom).
- Película de plástico resistente a los 95°C.
- Agua sin ADNasa.

7. PRECAUCIONES

- Lea atentamente y siga todas las instrucciones.
- Almacene el kit y los reactivos a -20°C (no en un congelador no frost).
- No mezcle componentes ni folletos de instrucciones de diferentes lotes de kits.
- Evite la contaminación por ADN de los componentes del kit.
- Manipule los reactivos con cuidado.
- No utilice el kit después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume donde se manipulan las muestras o los reactivos del kit.
- Utilice una punta de pipeta distinta para cada muestra.
- Utilice una perforadora adaptada a las pruebas genéticas para evitar la transferencia.
- No pipetee por la boca.
- El kit es solo para uso *in vitro*.
- Frases de riesgo:
 - H290: puede ser corrosivo para los metales.
 - H314: provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.
 - H315: provoca irritación cutánea.
 - H318: provoca lesiones oculares graves.
 - H319: provoca irritación ocular grave.
 - H335: puede provocar irritación de las vías respiratorias.

Para consultar los consejos de precaución, lea la hoja de datos de seguridad (HDS) del kit.

8. RECOGIDA DE MUESTRAS

Extraiga la sangre del talón del lactante solo utilizando la parte medial (más cercana a la línea central del cuerpo) o lateral (más alejada de la línea central del cuerpo) de la superficie plantar (al caminar). La extracción de sangre de otras zonas del pie del bebé, por ejemplo, el arco, puede provocar lesiones en los nervios, los tendones o los cartílagos.

Rellene la información necesaria en el formulario o tarjeta de extracción de sangre (véase el apartado 6).

Para aumentar el flujo sanguíneo local, caliente la zona de punción de la piel utilizando una toalla húmeda caliente (<42°C) y aplíquela sobre la zona durante 2-3 minutos. Además, mantener la extremidad del bebé por debajo del nivel del corazón aumentará el flujo venoso.

Limpie la piel con alcohol isopropílico al 70% (v/v). Seque con una gasa estéril y deje que la piel se seque al aire.

Pinche el talón con una lanceta estéril (de 2,4-2,5mm de longitud) o con un dispositivo de lanceta automático. Limpie la primera gota de sangre con una gasa estéril.

Toque suavemente un lado del papel de filtro contra una gota grande de sangre y, en un solo paso, deje que una cantidad suficiente de sangre empape el papel para llenar completamente el círculo preimpreso. Examine ambas caras del papel para asegurarse de que la sangre ha penetrado y saturado el papel. Repita el procedimiento para rellenar el número necesario de círculos preimpresos en la tarjeta de recogida de muestras. No toque en ningún momento el papel con la punta de los dedos, utilice guantes siempre.

No presione el sitio de punción durante la recogida, ya que eso puede causar hemólisis o dilución de la sangre con fluidos tisulares.

No aplique gotas sucesivas de sangre en el mismo círculo preimpreso. Si el flujo sanguíneo disminuye antes de llenar completamente el círculo preimpreso, repita la toma de muestras en un nuevo círculo.

No toque ni extienda las manchas de sangre.

Deje que la muestra de sangre se seque al aire en posición horizontal suspendida durante tres horas a temperatura ambiente (18-22°C), lejos de la luz solar directa o de una fuente de calor, evitando el contacto de las manchas con cualquier superficie.

Organice el transporte de la tarjeta de recogida al laboratorio de detección. No pruebe las muestras antes de 24 horas de la recogida. La sangre del cordón umbilical no debe utilizarse como muestra.

Para la conservación a largo plazo, las muestras se deben conservar a temperatura ambiente en un entorno exento de humedad.

9. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Extracción

Antes de iniciar la extracción: precaliente una incubadora a 95°C.

Placa de ensayo sugerida (incluida solo a modo de guía):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	vacío	muestra										
B	vacío	muestra										
C	control negativo de extracción	muestra										
D	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra
E	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra
F	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra
G	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra
H	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra

- Perfore un punto de 3 mm o 3,2 mm de la muestra de papel de filtro 903 (en la zona con sangre) que se coloca en un pocillo vacío de la microplaca de extracción (no suministrada).
- Repita la operación para cada muestra.
- Como control negativo de extracción, perfore el papel sin sangre y colóquelo en un pocillo vacío.
- Asegúrese de que todos los reactivos estén descongelados y a temperatura ambiente antes de su uso.**
- Mezcle con vórtex la solución de lisis durante 5 segundos y el tampón de extracción antes de su uso.
- Añada 50 µL de solución de lisis en todos los pocillos (incluido el pocillo de control).
- Cubra la microplaca con un adhesivo para microplacas (compruebe que cualquier mancha flote en la superficie).
- Coloque la microplaca a 95°C durante 30 minutos.

- Retire el adhesivo para microplacas inmediatamente (para evitar la condensación) impidiendo que se derrame entre los pocillos.
- Añada 50 µL de tampón de extracción en todos los pocillos (incluido el de control).
- Añada 100 µL de agua sin ADNasa en todos los pocillos y homogenice la solución.
- El ADN estará listo para uso en la PCR.

Lo ideal es utilizar los extractos directamente (no dejarlos a 4°C o a temperatura ambiente). Si este no es el caso, tiene dos posibilidades:

- Transfiera los extractos a la microplaca para PCR con la MasterMix como se indica a continuación. La microplaca para PCR cargada como tal debe almacenarse a 4°C durante un máximo de 4 horas.
- Almacene el extracto a -20°C hasta 24 horas.

2. Detección

Preparación de muestras y controles PCR

Placa de ensayo sugerida (incluida solo a modo de guía):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Agua	muestra										
B	EPC	muestra										
C	control negativo de extracción	muestra										
D	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra
E	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra
F	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra
G	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra
H	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra	muestra

Deje que la MasterMix de la microplaca se descongele a temperatura ambiente (15 minutos).

Centrifugue la microplaca 1 minuto a 2000 g para asegurarse de que todos los reactivos están en el fondo.

Retire cuidadosamente el precinto, evitando que se derramen los reactivos.

Cada reacción se compone de un volumen de 18 µL (ya alicuotado en la microplaca de PCR suministrada) con 2 µL de muestra de ADN o de EPC (control positivo externo, tapa azul) o de agua, como se indica a continuación:

- Añada 2 µL de agua en el control negativo de la PCR.
- Añada 2 µL de EPC (control de la AME) en el control positivo de la PCR.
- Añada 2 µL del ADN de la muestra en el pocillo de muestras.

Nombre	Cantidad de muestras (µL)	Cantidad para el control negativo de la PCR (µL)	Cantidad para el control positivo de la PCR (µL)
Agua	/	2	/
EPC (tapa azul)	/	/	2
Muestras	2	/	/

Selle la microplaca con un adhesivo para PCR (suministrado), centrifugue (1 min a 2000 g) y colóquela en el termociclador en tiempo real y configure los siguientes parámetros:

a. Programa para PCR

Etapas	Tiempo	Temperatura	Número de ciclos
1- Etapa de desnaturalización inicial	3 min	95°C	1X
2- Etapa de ciclado			
Desnaturalización	15 s	95°C	40X
Hibridación	30 s	60°C	

b. Parámetros de detección de fluorescencia

Objetivo	Informante	Excitación/emisión	Quencher
SMN1	FAM	494/520 nm	No fluorescente
Control	HEX	530/556 nm	No fluorescente

10. CONTROL DE CALIDAD

Para una mejor interpretación, fije manualmente el umbral de referencia en 400.

La prueba se valida si:

- Control negativo de la PCR y del extracto: Los valores Ct (FAM/SMN1) y Ct (HEX/RPP30) son superiores a 35.
- Control positivo de la PCR: Los valores Ct (FAM/SMN1) y Ct (HEX/RPP30) son aproximadamente 30 (entre 28 y 32).

Nota: El ciclo del umbral (Ct) es la intersección entre una curva de amplificación y una línea del umbral.

11. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

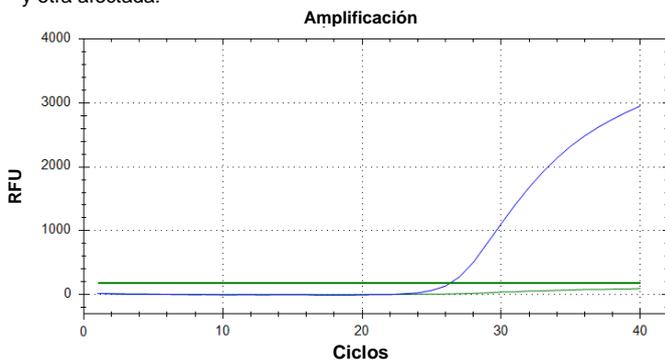
Todas las muestras con un valor Ct superior a 35 para la señal HEX no deben tenerse en cuenta y debe realizarse de nuevo el análisis.

Para interpretar los resultados, utilice la relación de los valores finales de RFU.

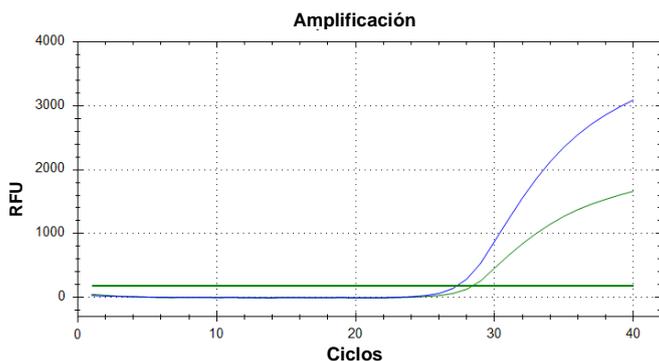
La relación se calcula de la siguiente manera: RFU (FAM) / RFU (HEX)

Relación	Interpretación
$2 > \text{FAM/HEX} > 0,2$	Paciente sano
$0,2 > \text{FAM/HEX} > 0,1$	No hay pruebas válidas
$\text{FAM/HEX} < 0,1$	Paciente afectado
$\text{FAM/HEX} > 2$	No hay pruebas válidas

Las siguientes figuras muestran los resultados típicos de una muestra sana y otra afectada:



Resultados obtenidos en pacientes afectados (solo señal HEX)



Resultados obtenidos en pacientes sanos (señal HEX y FAM)

12. RENDIMIENTOS ANALÍTICOS

Sensibilidad analítica:

El límite de detección (LdD) se ha definido como la menor cantidad de ADN necesaria para que el ensayo ofrezca resultados aceptables que den lugar a una interpretación clínica correcta.

El ADN sintético (tanto el ADN sano como el gen constitutivo) se ha utilizado en diferentes etapas de dilución, desde 10^6 copias de ADN/ μL hasta 10^2 copias de ADN/ μL . Cada solución se ha probado 5 veces.

La siguiente tabla muestra los resultados observados en términos de relación RFU y la interpretación clínica virtual resultante (el ADN utilizado es sintético):

Número de copias de ADN / μL	Relación RFU (SMN1 / RPP30)					Interpret.
	Rep. #1	Rep. #2	Rep. #3	Rep. #4	Rep. #5	
10^6	1,23	1,25	1,26	1,22	1,25	Sano
10^5	1,28	1,30	1,30	1,33	1,34	Sano
10^4	1,27	1,28	1,28	1,28	1,27	Sano
10^3	1,21	1,22	1,23	1,22	1,23	Sano
10^2	1,20	1,23	1,22	1,20	1,21	Sano

Estos resultados significan que incluso con una cantidad muy baja (102 copias de ADN/ μL) de ADN extraído, el ensayo qPCR Targeted SMA sigue generando resultados fiables.

El límite de blanco (LdB) se determinó analizando 45 muestras en blanco (papel sin sangre).

El umbral Ct se fijó en 35, lo que significa que una muestra en blanco con un valor Ct inferior a 35 para la señal HEX (correspondiente al gen RPP30) se consideraría contaminada y llevaría a considerar toda la microplaca como potencialmente contaminada. Todas las muestras deben volver a analizarse.

Especificidad analítica:

La especificidad analítica del dispositivo Targeted qPCR SMA se ha evaluado según el documento EP07 del CLSI (3ª edición, 2018).

Se ha comprobado que las siguientes sustancias, cuando se añaden a la sangre que contiene SMN1, no interfieren.

Se trata sobre todo de la medicación administrada a los neonatos, los aditivos de las muestras y los metabolitos bioquímicos anormales.

Interferente potencial	¿Existen interferencias?
Amoxicilina	NO
Cefotaxima	NO
Aciclovir	NO
Bilirrubina	NO
Vitamina K1	NO
SMN2	NO

Exactitud y precisión:

La precisión se define como la medida de la correspondencia entre un valor de medición individual y el valor verdadero (o de referencia). El ensayo Targeted qPCR SMA es un ensayo cualitativo que proporciona una respuesta binaria sobre el estado de un paciente con respecto a la AME. Por lo tanto, se ha evaluado la precisión comparando el estado del paciente obtenido mediante el ensayo Targeted qPCR SMA y mediante el uso de un método de referencia (prueba desarrollada por el Laboratorio de Genética Humana de HCU Lieja, Bélgica).

Para ello, se analizaron 14 muestras de (homocigotos sanos, 14 muestras de heterocigotos sanos y 12 muestras de afectados), y los resultados se compararon como se ha descrito anteriormente.

Todos los análisis (40 muestras) dieron resultados concordantes entre ambos métodos.

La precisión se define como la dispersión de los valores individuales en torno a la media. Para determinar la precisión del ensayo Targeted qPCR SMA, utilizamos las mismas 15 muestras por genotipo y realizamos 3 extracciones en cada una. La precisión se calculó como el CV (%) de la relación FAM/HEX para cada muestra (n = 3):

Muestra	Homocigotos sanos	Heterocigotos sanos	Afectados
Relación media	0,51	0,41	0,04
CV (%)	12,6	20,8	12,8

13. RENDIMIENTOS CLÍNICOS

		Secuenciación del ADN	
		Tipo salvaje o portador	Afectados
Targeted qPCR SMA	Tipo salvaje o portador	28	0
	Afectados	0	12

El valor predictivo positivo (VPP) se define como la proporción de pacientes con un resultado positivo que tienen la enfermedad, mientras que el valor predictivo negativo (VPN) se define como la proporción de pacientes con un resultado negativo que realmente no padecen la enfermedad. Se pueden calcular de la siguiente manera:

$$PPV = \frac{\text{Pacientes realmente enfermos}}{\text{Pacientes con resultados positivos}}$$

$$NPV = \frac{\text{Pacientes verdaderamente sanos}}{\text{Pacientes con resultados negativos}}$$

VALOR PREDICTIVO POSITIVO (VPP): 100%
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO (VPN): 100%

14. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Para garantizar resultados precisos y fiables, es necesario asegurarse de que todos los discos de manchas sanguíneas estén dentro de la solución de extracción durante el periodo de incubación.
- Se aconseja seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables. Cualquier modificación o cambio realizado en el kit o en el procedimiento de ensayo es responsabilidad del usuario.
- Este ensayo se ha diseñado para ser utilizado con muestras de sangre seca recogidas exclusivamente en papel de filtro 903 o 226 (Ahlstrom).
- No utilice la sangre del cordón umbilical.

15. ASISTENCIA TÉCNICA

Para cualquier asistencia, envíe una notificación a la dirección de correo electrónico customercare@zentech.be, así como a la autoridad competente (incidente grave).

16. BIBLIOGRAFÍA

Lorson C.L., Hahnen E., Androphy E.J., Wirth B. A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1999, vol. 96

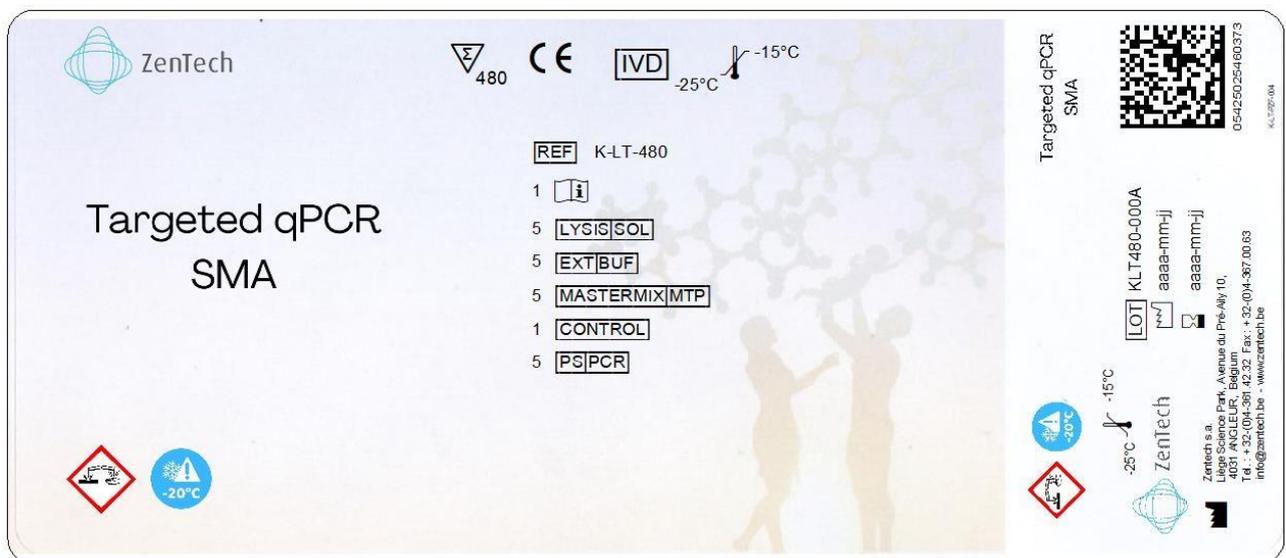

Biq. Ladrá Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

Nombre del kit: Targeted qPCR SMA

Nombre de la empresa: Zentech

Referencia : K-LT-480

PROYECTO DE ROTULO EXTERNO



IMPOR: Biodiagnóstico SA
Ing. Huergo 1437 PB I CABA
D.T. LAURA MERCAPIDE MN6108
AUT POR ANMAT N° **PM-1201-420**
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

[Escriba aquí]

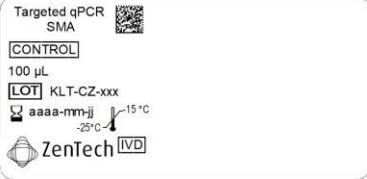
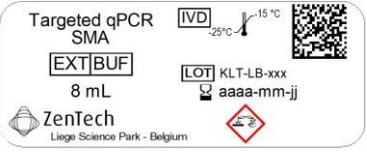

Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

Nombre del kit: Targeted qPCR SMA

Nombre de la empresa: Zentech

Referencia : K-LT-480

PROYECTO DE ROTULOS INTERNOS

<p>Mastermix (MTP) (05425025460403)</p>	 <p>Targeted qPCR SMA IVD -25°C -15°C MASTERMIX MTP LOT KLT-DZ-xxx 1 aaaa-mm-jj ZenTech Liege Science Park - Belgium</p>
<p>Control (05425025460410)</p>	 <p>Targeted qPCR SMA CONTROL 100 µL LOT KLT-CZ-xxx aaaa-mm-jj -25°C -15°C ZenTech IVD</p>
<p>Solución de lisis (05425025460380)</p>	 <p>Targeted qPCR SMA IVD -25°C -15°C LYSIS SOL LOT KLT-LA-xxx 8 mL aaaa-mm-jj ZenTech Liege Science Park - Belgium</p>
<p>Tampón de extracción (05425025460397)</p>	 <p>Targeted qPCR SMA IVD -25°C -15°C EXT BUF LOT KLT-LB-xxx 8 mL aaaa-mm-jj ZenTech Liege Science Park - Belgium</p>


Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.



Targeted qPCR SMA FLEX

K-MF-480

English	(en)
Deutsch	(de)
Español	(es)
Français	(fr)
Nederlands	(nl)

ZenTech s.a.

Liège Science Park - Avenue Pré Aily, 10 - 4031 ANGLEUR, Belgium
Tel. : + 32-(0)4-361.42.32 - Fax : + 32-(0)4-367.00.63

info@zentech.be
www.zentech.be

Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

ISO15223	MEDICAL DEVICES SYMBOL	SYMBOLE AUF MEDIZINPRODUKTEN	SÍMBOLOS DE PRODUCTOS SANITARIOS	SYMBOLES DISPOSITIFS MÉDICAUX	SYMBOOL MEDISCHE HULPMIDDELEN
	STORAGE TEMPERATURE LIMITATION	LAGERTEMPERATURGRENZE	LÍMITE DE TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN	LIMITE DE LA TEMPERATURE DE STOCKAGE	BEPERKING VAN OPSLAGTEMPERATUUR
LOT	BATCH CODE	CHARGENNUMMER	CÓDIGO DE LOTE	CODE DE LOT	BATCHCODE
	USE BY	VERWENDBAR BIS	USAR ANTES DE	DATE LIMITE D'UTILISATION	HOUDBAARHEIDSDATUM
	CONSULT OPERATING INSTRUCTIONS	GEBRAUCHSANWEISUNG BEACHTEN	CONSULTE LAS INSTRUCCIONES DE USO	CONSULTER LE MODE D'EMPLOI	GEBRUIKSAANWIJZING RAADPLEGEN
IVD	IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE	IN-VITRO-DIAGNOSTIKUM	DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO	DISPOSITIF DE DIAGNOSTIC IN VITRO	IN-VITRODIAGNOSTISCH HULPMIDDEL
	MANUFACTURED BY	HERSTELLER	FABRICADO POR	FABRICANT	VERVAARDIGD DOOR
REF	CATALOGUE NUMBER	BESTELNUMMER	NÚMERO DE CATÁLOGO	NUMERO DE REFERENCE	CATALOGUSNUMMER

	SYMBOLS (EDMA recommendations)	SYMBOLE (Empfehlungen der EDMA)	SÍMBOLOS (Recomendaciones de la EDMA)	SYMBOLES (recommandations EDMA)	SYMBOLEN (aanbevelingen EDMA)
	Number of determinations (480)	Anzahl der Bestimmungen (480)	Número de determinaciones (480)	Nombre de déterminations (480)	Aantal bepalingen (480)
LYSIS SOLUTION	Lysis Solution	Lyselösung	Solución de lisis	Solution de lyse	Lysisoplossing
EXT BUF	Extraction buffer	Extraktionspuffer	Tampón de extracción	Tampon d'extraction	Extractiebuffer
MASTERMIX	Mastermix	Mastermix	Mastermix	Master Mix	Mastermix
CONTROL	Synthetic DNA	Synthetische DNA	ADN sintético	ADN synthétique	Synthetisch DNA

ESPAÑOL

Ensayo qPCR para la detección de la mutación de la AME a partir de manchas de sangre seca de neonatos.

K-MF-480: 480 pruebas

SOLO PARA EL DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. USO PREVISTO

El kit Targeted qPCR SMA FLEX se ha desarrollado para permitir la detección de pacientes afectados de atrofia muscular espinal (homocigotos para la mutación en el gen SMN1).

El Targeted qPCR SMA es un ensayo cualitativo.

2. USO CLÍNICO

La AME es una enfermedad autosómica recesiva causada por una deleción en el 7º exón del gen SMN1. Los homocigotos mutados se ven afectados y los heterocigotos son portadores.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El kit Targeted qPCR SMA se ha diseñado para genotipar el sitio de mutación asociado a la AME sin diferenciar entre heterocigoto y tipo salvaje y se proporciona en un formato MasterMix fácil de usar.

El kit Targeted qPCR SMA se ha desarrollado, en primer lugar, para extraer el ADN de la sangre en papel de filtro 903 o 226 (mancha de sangre seca) y, en segundo lugar, para amplificar el alelo de tipo salvaje de la secuencia SMN1 dando como resultado una señal FAM fluorescente y para amplificar el gen constitutivo (RPP30) dando como resultado una señal HEX fluorescente. Una muestra sana (homocigota) y heterocigota producirá una señal FAM y HEX, una muestra afectada producirá solo una señal HEX.

Los resultados se expresan en relación con la RFU obtenida para la señal FAM y la RFU obtenida para la señal HEX.

El kit Targeted qPCR SMA incluye controles positivos y negativos.

4. REACTIVOS SUMINISTRADOS CON EL KIT

Una caja contiene:

Reactivo	Cantidad	Almacenamiento	Estado físico	Gráfico
MasterMix/ Tubo (tapa negra)	10 x 950 µL	-20°C	Listo para usar	-
Control EPC de la AME (tapa azul)	1 x100 µL	-20°C	Listo para usar	-
Solución de lisis (tapa blanca)	5x8 mL	-20°C	Listo para usar	
Tampón de extracción (tapa blanca)	5x8 mL	-20°C	Listo para usar	

- Los tubos contienen la mezcla de reacción necesaria para la amplificación por PCR de la AME.
- El control EPC contiene ADN sintético que es reconocido por los cebadores y las sondas HEX y FAM.
- Solución de lisis: tome el volumen necesario (en relación con el número de pruebas a realizar). Después de su uso, cierre y almacene el frasco a -20°C (y o 4°C). Una vez utilizado el tampón de lisis, deseche la solución restante.
- Tampón de extracción: tome el volumen necesario (en relación con el número de pruebas a realizar). Después de su uso, cierre y almacene el frasco a -20°C (y o 4°C). Una vez utilizada la solución de extracción, deseche el tampón restante.

5. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL KIT

Almacene el kit a -20°C (no en un congelador no-frost). Deje los componentes del kit en la caja para guardarlos.

Los reactivos conservan su reactividad hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No utilice los reactivos en una fecha posterior a la fecha de caducidad indicada.

6. MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- Pipetas automáticas monocanal o multicanal para suministrar volúmenes de 2 µL con una precisión de ± 1,5%.
- Pipetas automáticas monocanal o multicanal para suministrar volúmenes de 50 µL con una precisión de ± 1,5%.
- Pipetas automáticas monocanal o multicanal para suministrar volúmenes de 100 µL con una precisión de ± 1,5%.
- Una perforadora que produce discos de 3,2 mm (1/8") o 3 mm.
- Un termociclador (p.ej.: Biorad CFX96 Touch™, ThermoFisher Quantstudio5, Roche LC480).
- Puntas de pipeta sin ADNasa con filtros.
- Mezclador de vórtex.
- Centrifugadora para el centrifugado de las microplacas.
- Horno a 95°C.
- Microplaca de extracción de 96 pocillos: (ej. ref.0030 601 106 de Eppendorf o ref. QU CORN 3369 de Corning)
- Equipo de protección personal (guantes sin talco adecuados para la manipulación de muestras biológicas, bata de laboratorio, gafas).
- Tarjetas de toma de muestras de sangre. La información mínima preimpresa necesaria es:
 - nombre del niño/a.
 - nombre de la madre.
 - número de identificación del paciente.
 - fecha de nacimiento.
 - sexo.
 - fecha de recogida de la muestra.
 - identidad y dirección del remitente.
 - nombre y número de teléfono del médico.
 - fabricante y número de lote del filtro indicados en el papel.
- El papel de filtro debe ser 903 (Whatman) o 226 (Ahlstrom).
- Película de plástico resistente a 95°C.
- Agua sin ADNasa.
- Microplaca para PCR específica y compatible con los dispositivos PCR

7. PRECAUCIONES

- Lea atentamente y siga todas las instrucciones.
- Almacene el kit y los reactivos a -20°C (no en un congelador no frost).
- No mezcle componentes ni folletos de instrucciones de diferentes lotes de kits.
- Evite la contaminación por ADN de los componentes del kit.
- Manipule los reactivos con cuidado.
- No utilice el kit después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume donde se manipulan las muestras o los reactivos del kit.
- Utilice una punta de pipeta distinta para cada muestra.
- Utilice una perforadora adaptada a las pruebas genéticas para evitar la transferencia.
- No pipetee por la boca.
- El kit es solo para uso in vitro.
- Frases de riesgo:
 - H290: puede ser corrosivo para los metales.
 - H314: provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.
 - H315: provoca irritación cutánea.
 - H318: provoca lesiones oculares graves.
 - H319: provoca irritación ocular grave.
 - H335: puede causar irritación de las vías respiratorias.

Para consultar los consejos de precaución, lea la hoja de datos de seguridad (HDS) del kit.

8. RECOGIDA DE MUESTRAS

Extraiga la sangre del talón del lactante solo utilizando la parte medial (más cercana a la línea central del cuerpo) o lateral (más alejada de la línea central del cuerpo) de la superficie plantar (al caminar). La extracción de sangre de otras zonas del pie del bebé, por ejemplo, el arco, puede provocar lesiones en los nervios, los tendones o los cartílagos.

Rellene la información necesaria en el formulario o tarjeta de extracción de sangre (véase el apartado 6).

Para aumentar el flujo sanguíneo local, caliente la zona de punción de la piel utilizando una toalla húmeda caliente (<42°C) y aplíquela sobre la zona durante 2-3 minutos. Además, mantener la extremidad del bebé por debajo del nivel del corazón aumentará el flujo venoso.

Limpie la piel con alcohol isopropílico al 70% (v/v). Seque con una gasa estéril y deje que la piel se seque al aire.

Pinche el talón con una lanceta estéril (de 2,4-2,5 mm de longitud) o con un dispositivo de lanceta automático. Limpie la primera gota de sangre con una gasa estéril.

Toque suavemente un lado del papel de filtro contra una gota grande de sangre y, en un solo paso, deje que una cantidad suficiente de sangre empape el papel para llenar completamente el círculo preimpreso. Examine ambas caras del papel para asegurarse de que la sangre ha penetrado y saturado el papel. Repita el procedimiento para rellenar el número necesario de círculos preimpresos en la tarjeta de recogida de muestras. No toque en ningún momento el papel con la punta de los dedos, utilice guantes siempre.

No presione el sitio de punción durante la recogida, ya que eso puede causar hemólisis o dilución de la sangre con fluidos tisulares. No aplique gotas sucesivas de sangre en el mismo círculo preimpreso. Si el flujo sanguíneo disminuye antes de llenar completamente el círculo preimpreso, repita la toma de muestras en un nuevo círculo.

No toque ni extienda las manchas de sangre.

Deje que la muestra de sangre se seque al aire en posición horizontal suspendida durante tres horas a temperatura ambiente (18-22°C), lejos de la luz solar directa o de una fuente de calor, evitando el contacto de las manchas con cualquier superficie. Organice el transporte de la tarjeta de recogida al laboratorio de detección. No pruebe las muestras antes de 24 horas de la recogida. La sangre del cordón umbilical no debe utilizarse como muestra.

Para la conservación a largo plazo, las muestras se deben conservar a temperatura ambiente en un entorno sin humedad.

9. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Extracción

Antes de iniciar la extracción: precaliente una incubadora a 95°C.

- Perfore un punto de 3 mm o 3,2 mm de la muestra de papel de filtro 903 (en la zona con sangre) que se coloca en un pocillo vacío de la microplaca de extracción (no suministrada). Atención: se recomienda dejar dos pocillos libres para los controles PCR positivo y negativo (ver 2. Detección)
- Repita la operación para cada muestra.
- Como control negativo de extracción, perfore el papel de filtro 903 sin sangre y colóquelo en un pocillo vacío.
- Asegúrese de que todos los reactivos estén descongelados y a temperatura ambiente antes de su uso.**
- Mezcle con vórtex la solución de lisis durante 5 segundos y el tampón de extracción antes de su uso.
- Añada 50 µL de solución de lisis en todos los pocillos (incluido el pocillo de control).
- Cubra la microplaca con un adhesivo para microplacas (evite que cualquier mancha flote en la superficie)
- Coloque la microplaca a 95°C durante 30 minutos.
- Retire el adhesivo para microplacas inmediatamente (para evitar la condensación) evitando que se derrame entre los pocillos.
- Añada 50 µL de tampón de extracción en todos los pocillos (incluido el de control).
- Añada 100 µL de agua sin ADNasa en todos los pocillos y homogenice la solución.
- El ADN estará listo para poder utilizarse en la PCR.

Lo ideal es utilizar los extractos directamente (no dejarlos a 4°C o a temperatura ambiente). Si no es así, tiene dos posibilidades:

- Transfiera los extractos a la microplaca para PCR con la MasterMix como se indica a continuación. La microplaca para PCR cargada como tal debe almacenarse a 4°C durante un máximo de 4 horas.
- Almacene el extracto a -20°C hasta 24 horas.

2. Detección

Preparación de muestras y controles PCR

Deje que la MasterMix en el tubo se descongele a temperatura ambiente (15 minutos), agite para homogeneizar la solución y centrifugue brevemente el tubo para asegurarse de que todos los reactivos están en el fondo.

Cada reacción se compone de un volumen de 20 µL con 18 µL de MasterMix y 2 µL de muestra de ADN o EPC (control positivo externo, tapa azul) o agua. A continuación, añada 18µL de MasterMix en cada pocillo:

- Añada 2 µL de agua en el control negativo de la PCR.
- Añada 2 µL de EPC (control de la AME) en el control positivo de la PCR.
- Añada 2 µL del ADN de la muestra en el pocillo de muestras.

Color de la tapa	Nombre	Cantidad de muestras (µL)	Cantidad para el control negativo de la PCR (µL)	Cantidad para el control positivo de la PCR (µL)
	Agua	/	2	/
Azul	EPC	/	/	2
	Muestras	2	/	/

Selle la microplaca con un adhesivo para PCR (no suministrado), centrifugue (1 minuto a 2000 g) y colóquela en el termociclador en tiempo real y configure los siguientes parámetros:

a. Programa para PCR (BioRad CFX96)

Etapas	Tiempo	Temperatura	Número de ciclos
1- Etapa de desnaturalización inicial	3 min	95°C	1X
2-Etapa de ciclado			
Desnaturalización	15 s	95°C	40X
Hibridación	30 s	60°C	

b. Parámetros de detección de fluorescencia

Objetivo	Informante	Excitación/emisión	Quencher
SMN1	FAM	494/520 nm	No fluorescente
Control	HEX	530/556 nm	No fluorescente

10. CONTROL DE CALIDAD

Sugerimos ajustar el valor del umbral manualmente según las recomendaciones del fabricante. A título indicativo y basándonos en nuestros datos, el umbral puede fijarse en 400 para Biorad CFX96.

La prueba se valida si:

- Control negativo de la PCR y del extracto: Los valores Ct (FAM/SMN1) y Ct (HEX/RPP30) son superiores a 35.
- Control positivo de la PCR: Los valores Ct (FAM/SMN1) y Ct (HEX/RPP30) son aproximadamente 30 (entre 28 y 32).

Nota: El ciclo del umbral (Ct) es la intersección entre una curva de amplificación y una línea del umbral.

11. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Todas las muestras con un valor Ct superior a 35 para la señal HEX no deben tenerse en cuenta y debe realizarse de nuevo el análisis.

Para interpretar los resultados, utilice la relación de los valores finales de RFU.

La relación se calcula de la siguiente manera: RFU (FAM) / RFU (HEX).

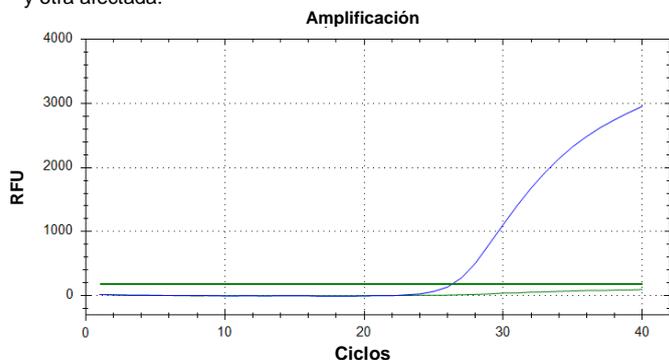
Se recomienda encarecidamente a los usuarios que definan en su propio equipo la interpretación de los resultados en función de los ratios y con la ayuda de muestras de control.

A título informativo, se han definido las siguientes relaciones en función de los equipos:

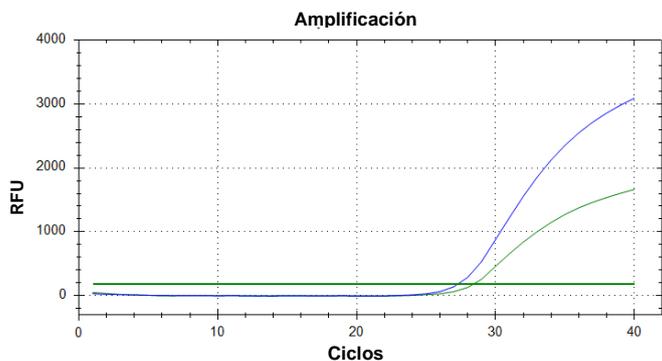
Bio-Rad CFX96:

Relación RFU FAM / RFU HEX	Interpretación
$2 > \text{FAM/HEX} > 0,2$	Paciente sano
$0,2 > \text{FAM/HEX} > 0,1$	No hay pruebas válidas
$\text{FAM/HEX} < 0,1$	Paciente afectado
$\text{FAM/HEX} > 2$	No hay pruebas válidas

Las siguientes figuras muestran los resultados típicos de una muestra sana y otra afectada:



Resultados obtenidos en pacientes afectados (solo señal HEX)



Resultados obtenidos en pacientes sanos (señal HEX y FAM)

12. RENDIMIENTOS ANALÍTICOS

El rendimiento analítico se ha establecido en un CFX96 de BioRad.

Sensibilidad analítica:

El límite de detección (LdD) se definió como la menor cantidad de ADN necesaria para que el ensayo ofrezca resultados aceptables que den lugar a una interpretación clínica correcta.

El ADN sintético (tanto el ADN sano como el gen constitutivo) se ha utilizado en diferentes etapas de dilución, desde 10^6 copias de ADN/ μL hasta 10^2 copias de ADN/ μL . Cada solución se ha probado 5 veces.

La siguiente tabla muestra los resultados observados en términos de relación RFU y la interpretación clínica virtual resultante (el ADN utilizado es sintético):

Número de copias de ADN / μL	Relación RFU (SMN1 / RPP30)					Interpret.
	Rep. #1	Rep. #2	Rep. #3	Rep. #4	Rep. #5	
10^6	1,23	1,25	1,26	1,22	1,25	Sano
10^5	1,28	1,30	1,30	1,33	1,34	Sano
10^4	1,27	1,28	1,28	1,28	1,27	Sano
10^3	1,21	1,22	1,23	1,22	1,23	Sano
10^2	1,20	1,23	1,22	1,20	1,21	Sano

Estos resultados significan que incluso con una cantidad muy baja (10^2 copias de ADN/ μL) de ADN extraído, el ensayo qPCR Targeted SMA sigue proporcionando resultados fiables.

El límite de blanco (LdB) se ha determinado analizando 45 muestras en blanco (papel sin sangre).

El umbral Ct se fijó en 35, lo que significa que una muestra en blanco con un valor Ct inferior a 35 para la señal HEX (correspondiente al gen RPP30) se consideraría contaminada y llevaría a considerar toda la microplaca como potencialmente contaminada. Todas las muestras deben volver a analizarse.

Especificidad analítica:

La especificidad analítica del dispositivo Targeted qPCR SMA se ha evaluado según el documento EP07 del CLSI (3ª edición, 2018).

Se ha comprobado que las siguientes sustancias, cuando se añaden a la sangre que contiene SMN1, no interfieren.

Se trata sobre todo de la medicación administrada a los neonatos, los aditivos de las muestras y los metabolitos bioquímicos anormales.

Interferente potencial	¿Existen interferencias?
Amoxicilina	NO
Cefotaxima	NO
Aciclovir	NO
Bilirrubina	NO
Vitamina K1	NO
SMN2	NO

Exactitud y precisión:

La precisión se define como la medida de la correspondencia entre un valor de medición individual y el valor verdadero (o de referencia). El ensayo Targeted qPCR SMA es un ensayo cualitativo que proporciona una respuesta binaria sobre el estado de un paciente con respecto a la AME. Por lo tanto, se ha evaluado la precisión comparando el estado del paciente obtenido mediante el ensayo Targeted qPCR SMA y mediante el uso de un método de referencia (prueba desarrollada por el Laboratorio de Genética Humana de CHU Lieja, Bélgica).

Para ello, se analizaron 14 muestras de (homocigotos sanos, 14 muestras de heterocigotos sanos y 12 muestras de afectados), y los resultados se compararon como se ha descrito anteriormente.

Todos los análisis (40 muestras) dieron resultados concordantes entre ambos métodos.

La precisión se define como la dispersión de los valores individuales en torno a la media. Para determinar la precisión del ensayo Targeted qPCR SMA, utilizamos las mismas 15 muestras por genotipo, realizamos 3 extracciones en cada una. La precisión se calculó como el CV (%) de la relación FAM/HEX para cada muestra ($n = 3$):

Muestra	Homocigotos sanos	Heterocigotos sanos	Afectados
Relación media	0,51	0,41	0,04
CV (%)	12,6	20,8	12,8


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

13. RENDIMIENTOS CLÍNICOS

		Secuenciación del ADN	
		Tipo salvaje o portador	Afectados
Targeted qPCR SMA	Tipo salvaje o portador	28	0
	Afectados	0	12

El valor predictivo positivo (VPP) se define como la proporción de pacientes con un resultado positivo que tienen la enfermedad, mientras que el valor predictivo negativo (VPN) se define como la proporción de pacientes con un resultado negativo que realmente no padecen la enfermedad. Se pueden calcular de la siguiente manera:

$$PPV = \frac{\text{Pacientes realmente enfermos}}{\text{Pacientes con resultados positivos}}$$

$$NPV = \frac{\text{Pacientes verdaderamente sanos}}{\text{Pacientes con resultados negativos}}$$

VALOR PREDICTIVO POSITIVO (VPP): 100 %

VALOR PREDICTIVO NEGATIVO (VPN): 100 %

14. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Para garantizar resultados precisos y fiables, es necesario asegurarse de que todos los discos de manchas de sangre estén dentro de la solución de extracción durante el período de incubación.
- Se aconseja seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables. Cualquier modificación o cambio realizado en el kit o en el procedimiento de ensayo es responsabilidad del usuario.
- Este ensayo se ha diseñado para ser utilizado con muestras de sangre seca recogidas exclusivamente en papel de filtro 903 o 226 (Ahlstrom).
- No utilice la sangre del cordón umbilical.

15. ASISTENCIA TÉCNICA

Para cualquier asistencia, envíe una notificación a la dirección de correo electrónico customercare@zentech.be, así como a la autoridad competente (incidente grave).

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Lorson C.L., Hahnen E., Androphy E.J., Wirth B. A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1999, vol. 96

PROYECTO DE ROTULO EXTERNO

ZenTech

480 CE IVD -15°C

Targeted qPCR
SMA FLEX

REF K-MF-480

1

5 LYSIS SOL

5 EXT BUF

10 MASTERMIX

1 CONTROL

Targeted qPCR
SMA FLEX

LOT KMF480-000A
aaaa-mm-ij aaaa-mm-ij

ZenTech s.a.
Lilje Science Park, Avenue du Pré-Ailly 10,
4031 ANGLEUR, Belgium
Tel. : +32-(0)4-361.42.32 Fax: +32-(0)4-367.00.03
info@zntech.be - www.zntech.be

054125025460427
KMF480-000

IMPOR: Bodiagnóstico SA
Ing.Huergo 1437 PB I CABA
D.T. LAURA MERCAPIDE MN6108
AUT POR ANMAT N° **PM-1201-420**
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

[Escriba aquí]


Biolg. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Bodiagnóstico S.A.

Nombre del kit: Targeted qPCR SMA FLEX

Nombre de la empresa: Zentech

Referencia : K-MF-480

PROTECTO DE ROTULOS INTERNOS

<p>Mastermix (05425025460458)</p>	<p>Targeted qPCR SMA FLEX </p> <p>MASTERMIX</p> <p>950 µl</p> <p>LOT KMF-AZ-xxx</p> <p>aaaa-mm-jj  15 °C -25 °C</p> <p> ZenTech IVD</p>
<p>Control (05425025460465)</p>	<p>Targeted qPCR SMA FLEX </p> <p>CONTROL</p> <p>100 µL</p> <p>LOT KMF-CZ-xxx</p> <p>aaaa-mm-jj  15 °C -25 °C</p> <p> ZenTech IVD</p>
<p>Solución de lisis (05425025460434)</p>	<p>Targeted qPCR IVD  15 °C SMA FLEX  -25 °C </p> <p>LYSIS SOL</p> <p>LOT KMF-LA-xxx</p> <p>8 mL aaaa-mm-jj</p> <p> ZenTech  Liege Science Park - Belgium</p>
<p>Tampón de extracción (05425025460441)</p>	<p>Targeted qPCR IVD  15 °C SMA FLEX  -25 °C </p> <p>EXT BUF</p> <p>LOT KMF-LB-xxx</p> <p>8 mL aaaa-mm-jj</p> <p> ZenTech  Liege Science Park - Belgium</p>


Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: BIODIAGNOSTICO S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 16 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.05.29 11:22:54 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.05.29 11:22:56 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001573-24-8

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

Expediente Nº 1-0047-3110-001573-24-8

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: Ensayo por PCR en Tiempo Real para la detección de la mutación de la atrofia muscular espinal (AME) a partir de manchas de sangre seca de neonatos

Marca comercial: ZenTech

Modelos:

- 1) Targeted qPCR SMA (Código K-LT-480)
- 2) Targeted qPCR SMA FLEX (Código K-MF-480)

Indicación/es de uso:

1)El kit Targeted qPCR SMA se ha desarrollado para permitir la detección de pacientes afectados con atrofia muscular espinal (homocigotos de la mutación en el gen SMN1). El Targeted qPCR SMA es un ensayo cualitativo por PCR a partir de muestras de sangre entera recogidas en papel

2)El kit Targeted qPCR SMA FLEX ha sido desarrollado para permitir la detección de pacientes afectados de atrofia muscular espinal (homocigotos para la mutación en el gen SMN1). El Targeted qPCR SMA FLEX es un ensayo cualitativo por PCR a partir de muestras de sangre entera recogidas en papel

Forma de presentación: 1) Targeted qPCR SMA: Presentación : Caja (kit) para 480 determinaciones

Componentes del kit

- Placas recubiertas con Master Mix 5 placas x 96 pocillo . Las placas contienen la mezcla de reacción necesaria para la amplificación por PCR del ácido nucleico AME cebadores/sondas y polimerasa para amplificación PCR
- Control Positivo Externo (CPE) SMA 1 frasco por 100 µl Contiene mezcla de ADN sintético con secuencia del gen SMN1 reconocido por los cebadores y las sondas HEX y FAM.
- Buffer de Lisis : 5 frascos por 8 ml . Contiene NaOH < 2% y EDTA cc < 1%
- Buffer de extracción: 5 frascos por 8 ml Contiene HCl cc < 2%
- Láminas selladoras de placas: 5 . Contiene plástico adhesivo

2) Targeted qPCR SMA FLEX Presentación : Caja (kit) para 480 determinaciones

Componentes del kit

- Master Mix : 10 frascos por 950 µl Contiene la mezcla de reacción necesaria para la amplificación por PCR del ácido nucleico AME cebadores/sondas y polimerasa para amplificación PCR
- Control Positivo Externo (CPE) SMA 1 frasco por 100 µl Contiene mezcla de ADN sintético con secuencia del gen SMN1 reconocido por los cebadores y las sondas HEX y FAM
- Buffer de Lisis : 5 frascos por 8 ml . Contiene NaOH < 2% y EDTA cc < 1%
- Buffer de extracción: 5 frascos por 8 ml Contiene HCl cc < 2%

Período de vida útil: 1)y2) Vida útil 15 meses . Condiciones de conservación Almacene el kit a -20°C (no en un freezer no-frost).Deje los componentes del kit en la caja para guardarlos. Los reactivos sin abrir conservan su reactividad hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No utilice los reactivos en una fecha posterior a la fecha de caducidad indicada. Una vez abiertos y consumidos los componentes, deben desecharse y no volver a congelarse.

Nombre del fabricante:

ZenTech s.a.

Lugar de elaboración:

Liège Science Park, Avenue du Pré-Aily, 10,4031 Angleur Belgium

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 1201-420 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

1-0047-3110-001573-24-8

N° Identificador Trámite: 57126

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.06.03 18:28:40 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.03 18:28:42 -03:00