



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001958-24-9

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-001958-24-9 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones DETx MOL 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: MultiTarget® THR KIT.

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 1°.- 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: MultiTarget® THR KIT, de acuerdo con lo solicitado por DETx MOL S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2024-59007164-APN-DVPCYAR#ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 2900-1 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: MultiTarget® THR KIT

Marca comercial: MultiTarget®

Modelos:

N/A

Indicación/es de uso:

Método de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa de los alelos normal y mutado de las variantes c.1691G>A del gen F5 (Factor V Leiden) y c.20210G>A del gen F2 (deficiencia de Protrombina) en pacientes con sospecha de trombofilia y síntomas asociados a partir de muestras de sangre entera.

Forma de presentación: Kit por 25 determinaciones (cod. TH1-KIT-001.25): 1 x 56 µL TH1-OLIGOMIX, 1 x 56 µL OLIGO-FV, 1 x 56 µL OLIGO-FII, 1 x 110 µL MASTERMIX FP 5X, 1 x 200 µL TH1-CTRL POS y 1 x 1500 µL AGUA

DNase/RNase free.

Kit por 50 determinaciones (cod. TH1-KIT-001.50): 1 x 110 µl TH1-OLIGOMIX, 1 x 110 µl OLIGO-FV, 1 x 110 µl OLIGO-FII, 1 x 220 µl MASTERMIX FP 5X, 1 x 200 µl TH1-CTRL POS y 1 x 1500 µl AGUA DNase/RNase free.

Kit por 100 determinaciones (cod. TH1-KIT-001.100): 1 x 220 µl TH1-OLIGOMIX, 1 x 220 µl OLIGO-FV, 1 x 220 µl OLIGO-FII, 1 x 440 µl MASTERMIX FP 5X, 1 x 200 µl TH1-CTRL POS y 1 x 1500 µl AGUA DNase/RNase free.

Composición

TH1-OLIGOMIX: mezcla de oligonucleótidos antisentidos para la amplificación específica de alelos del gen F5 y F2. Presentación: seco.

OLIGO-FV: mezcla de oligonucleótidos sentidos y sondas para la amplificación específica de alelos del gen F5. Presentación: seco.

OLIGO-FII: mezcla de oligonucleótidos sentidos y sondas para la amplificación específica de alelos del gen F2. Presentación: seco.

MASTERMIX FP 5X: mezcla de reacción que contiene todos los componentes para la reacción de amplificación (buffer de reacción, dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dUTP), Hot-Start Fast DNA polimerasa, MgCl₂, UNG, agentes aditivos que maximizan la eficiencia de la PCR, estabilizantes y conservantes). Presentación: líquido.

TH1-CTRL POS: Control Positivo que consiste en secuencias de ácidos nucleicos específicas con y sin las variantes c.1601G>A (rs6025) y G20210A (rs1799963) en los genes F5 y F2, respectivamente. Presentación: líquido.

AGUA DNase/RNase free: agua libre de nucleasas. Presentación: líquido.

Período de vida útil y condición de conservación: Vida útil: 12 meses

Conservación: -20°C protegido de la luz.

Se recomienda no descongelar más de 10 veces.

Una vez abiertos los reactivos pueden conservarse hasta la fecha de caducidad indicada, siempre que se almacenen bajo las condiciones especificadas y se protejan de las contaminaciones.

Nombre del fabricante:

DETx MOL S.A.

Lugar de elaboración:

Piso 3 - Nave 4 del Campus Corporativo Cooperativo Núcleo. Ruta Provincial N° 16 km 5 (intersección autopista Rosario-BsAs y AO12). Alvear (2130). Santa Fe. Argentina.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

N° 1-0047-3110-001958-24-9

N° Identificadorio Trámite: 57506

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.06.06 18:03:02 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.06 18:03:04 -03:00

MODELO DE ROTULO e INSTRUCCIONES DE USO

MultiTarget® THR KIT

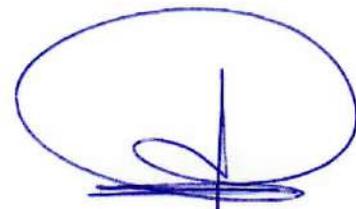
PM 2900-1

DETx MOL S.A.

Registro de Producto para diagnóstico uso "in vitro"
Disposición ANMAT 2198/2022 y 2674/99.



Diego Chouhy
Responsable legal



Germán R. Perez
Director Técnico

RÓTULOS EXTERNOS:

1 - NOMBRE DEL PRODUCTO: **MultiTarget® THR KIT**

2 - ESTABLECIMIENTO ELABORADOR., DOMICILIO LEGAL Y NOMBRE DEL DIRECTOR TÉCNICO:

DETx MOL S.A.

Juan Manuel de Rosas 950 - Rosario (CP 2000) - Argentina.

Teléfono: +54 (0341) 7352035

Director Técnico: Bioq. Germán R. Perez, PhD.

3 - AUTORIZADO POR ANMAT N° PM 2900-1

4 - NÚMERO DE LOTE O PARTIDA:

LOT

5 - FECHA DE VENCIMIENTO



6 - CONSTITUCIÓN DEL EQUIPO (NÚMERO DE DETERMINACIONES POSIBLES)

 25 det.

 50 det.

 100 det.

7 - CONFORMACIÓN DEL EQUIPO (INDICACIÓN DE LAS UNIDADES MÉTRICAS)

TH1-KIT-001.25

1 x → 56 µl	TH1-OLIGOMIX	(COD: TH1-OM-001.25)
1 x → 56 µl	OLIGO-FV	(COD: TH1-FV-001.25)
1 x → 56 µl	OLIGO-FII	(COD: TH1-F2-001.25)
1 x 110 µl	MASTERMIX 5X	(COD: FPM-MM-001.25)
1 x 200 µl	TH1-CTRL POS	(COD: TH1-CP-001)
1 x 1500 µl	AGUA DNAsa/RNAsa free	(COD: AT1-LAB-001)

TH1-KIT-001.50

1 x → 110 µl	TH1-OLIGOMIX	(COD: TH1-OM-001.50)
1 x → 110 µl	OLIGO-FV	(COD: TH1-FV-001.50)
1 x → 110 µl	OLIGO-FII	(COD: TH1-F2-001.50)
1 x 220 µl	MASTERMIX 5X	(COD: FPM-MM-001.50)
1 x 200 µl	TH1-CTRL POS	(COD: TH1-CP-001)
1 x 1500 µl	AGUA DNAsa/RNAsa free	(COD: AT1-LAB-001)


Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


 Bioq. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

TH1-KIT-001.100

1 x → 220 µl	TH1-OLIGOMIX	(COD: TH1-OM-001.100)
1 x → 220 µl	OLIGO-FV	(COD: TH1-FV-001.100)
1 x → 220 µl	OLIGO-FII	(COD: TH1-F2-001.100)
1 x 440 µl	MASTERMIX 5X	(COD: FPM-MM-001.100)
1 x 200 µl	TH1-CTRL POS	(COD: TH1-CP-001)
1 x 1500 µl	AGUA DNAsa/RNAsa free	(COD: AT1-LAB-001)

8 - LEYENDA "USO DIAGNÓSTICO IN-VITRO"



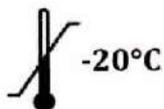
9 - DESCRIPCIÓN DE LA FINALIDAD DE USO

Método de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa de los alelos normal y mutado de las variantes c.1691G>A del gen F5 (Factor V Leiden) y c.20210G>A del gen F2 (deficiencia de Protrombina) en pacientes con sospecha de trombofilia y síntomas asociados a partir de muestras de sangre entera.

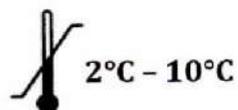
10 - DESCRIPCIÓN DE LAS PRECAUCIONES



11 - CONDICIONES DE CONSERVACIÓN



12 - CONDICIONES DE TRANSPORTE



Dr. DIEGO CHOUHY
Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

Bioq. GERMAN PEREZ
Bioq. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

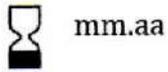
RÓTULOS INTERNOS

1 - TH1-OLIGOMIX

TH1-OLIGOMIX

LOT TH1-OM-aa.##

Agregar xxx µl de AGUA DNAsa/RNAsa free



IVD

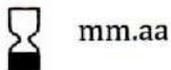


2 - OLIGO-FV

OLIGO-FV

LOT TH1-FV-aa.##

Agregar xxx µl de AGUA DNAsa/RNAsa free



IVD

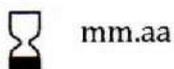


3 - OLIGO-FII

OLIGO-FII

LOT TH1-FII-aa.##

Agregar xxx µl de AGUA DNAsa/RNAsa free



IVD



Dr. **DIEGO CHOUHY**
Apoderado
DETx MOL S.A.

Bloq. **GERMAN PEREZ**
Director Técnico
DETx MOL S.A.

4 - MASTERMIX FP 5X

MASTERMIX FP 5X

LOT FPM-MM-aa.##

Listo para usar

 mm.aa

IVD

 -20°C
ALMACENAMIENTO

5 - TH1-CTRL POS

TH1-CTRL POS

LOT TH1-CP-aa.##

Listo para usar

 mm.aa

IVD

 -20°C
ALMACENAMIENTO

6 - AGUA DNAsa/RNAsa free

AGUA DNAsa/RNAsa free

LOT AT1-LAB-aa.##

Listo para usar

 mm.aa

IVD

 -20°C
ALMACENAMIENTO


Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETx MOL S.A.


Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

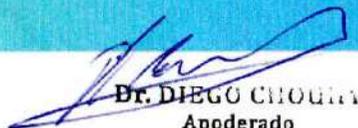
INSTRUCCIONES

DE USO

MultiTarget[®] THR KIT



detx mol


Dr. DIEGO CHOURY
Apoderado
DETx MOL S.A.

MultiTarget[®] THR KIT

Para utilizar en los equipos:

QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

Step One (Applied Biosystems)

Step One Plus™ (Applied Biosystems)

CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

cobas[®] z 480 analyzer (Roche Molecular Systems, Inc.)

Mic[®] qPCR Thermal Cycler- 4 (Biomolecular Systems)

Fabricado por DETx MOL S.A.

Piso 3 / Nave 4
Campus Corporativo Cooperativo Núcleo
Ruta Provincial N° 16 km 5
Alvear (2130), Santa Fe. Argentina

Dir. Tec.: Germán R. Perez
Bioquímico. PhD.
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-2900-1

Versión: 01

Última revisión: 15/04/2024



DISPOSITIVOS
MÉDICOS
REG. N° 11.488.1019
DETx MOL
DE LA CALIDAD
REG. N° 0331.2015


Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

detx mol

DETx MOL garantiza todos sus productos, tanto en los materiales empleados como en su proceso de fabricación, siendo extensible hasta su fecha de vencimiento, siempre que se mantengan las condiciones de conservación especificadas en este manual. Todos nuestros productos comercializados se producen bajo un sistema de gestión integral de la calidad certificados por las normas ISO 9001:2015 e ISO 13485:2019. De esta forma, se confirma la reproducibilidad y fiabilidad de cada lote fabricado. **Nuestros productos están diseñados para su uso en diagnóstico *in vitro*.**

Para cualquier consulta sobre las aplicaciones de este producto o sobre sus protocolos, se puede contactar a sopORTE@detxmol.com.ar.

MultiTarget® es una marca registrada de **DETx MOL**.

CÓDIGO	TH1-KIT-001.25	TH1-KIT-001.50	TH1-KIT-001.100
Nº REACCIONES	25	50	100

COMPONENTES	CONTENIDO DEL TUBO		
TH1-OLIGOMIX	1 x → 56 µl	1 x → 110 µl	1 x → 220 µl
OLIGO-FV	1 x → 56 µl	1 x → 110 µl	1 x → 220 µl
OLIGO-FII	1 x → 56 µl	1 x → 110 µl	1 x → 220 µl
MASTERMIX FP 5X	1 x 110 µl	1 x 220 µl	1 x 440 µl
TH1-CTRL POS	1 x 200 µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
AGUA DNase/RNase free	1 x 1500 µl	1 x 1500 µl	1 x 1500 µl

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	
Secuencias dianas	Factor V Leiden: c.1601G>A del gen F5 (rs6025) Protrombina G20210A: c.*97G>A del gen F2 (rs1799963)
Tipos de muestras	Sangre entera con EDTA
[ADN genómico]	rango óptimo: 1,0 a 50 ng/µl (5 a 250 ng/reacción)
Pureza ADN genómico	relación A ₂₆₀ /A ₂₈₀ entre 1,8 y 2,0
Reproducibilidad	
Repetitividad	100%
Precisión intra-laboratorio	
Interferente	Heparina a altas concentraciones (260 U/ml)
Concordancia porcentual (356 muestras)	Positiva (PPA): 100% Negativa (NPA): 100% General (OPA): 100%

INDICE

Información clínica	1
Uso previsto	2
Fundamento del método	2
Contenido del kit	2
Materiales necesarios (no provistos por el kit)	3
Equipos necesarios (no provistos por el kit)	3
Condiciones de conservación	4
Advertencias y precauciones de uso	4
Muestra: consideraciones generales	5
Procedimiento	6
1. Obtención de ADN genómico	6
2. Reconstitución de los reactivos secos	6
3. Preparación de la mezcla de reacción	6
4. Programación del termociclador	7
5. Análisis de los resultados	8
6. Criterios de validación del ensayo	8
Interpretación de resultados	9
Limitaciones del ensayo	9
Control de calidad	11
Desempeño del producto	11
1. Especificidad <i>in silico</i>	11
2. Especificidad analítica	11
3. Inespecificidad cruzada	12
4. Rango dinámico	12
5. Desempeño con sistemas de purificación de ácidos nucleicos	12
6. Precisión/Variabilidad	13
7. Interferencias y contaminantes	13
8. Estudios de verificación en equipos qPCR	14
9. Validación clínica	14
Solución de problemas	15
Referencias bibliográficas	16
Marcas comerciales y Aviso legal	16
Código QR	16



detx mol

Dr. DIEGO CHOUHAY
Apoderado
DETx MOL S.A.



Bloq. GERMAN PEREZ
Directo Técnico
DETx MOL S.A.

detx mol

INFORMACIÓN CLÍNICA

La trombosis tiene un papel crucial en las tres causas más importantes de muerte cardiovascular en el mundo: el infarto agudo de miocardio, el accidente cerebrovascular y el tromboembolismo venoso. Variantes genéticas en genes que codifican para factores o inhibidores de la coagulación son importantes factores de riesgo tromboembólico.

El Factor V se sintetiza en el hígado y circula en forma inactiva hasta que se produce la activación del sistema de la coagulación como consecuencia de cualquier daño vascular. Cuando este factor se activa (Factor Va), interacciona con el Factor X activado para formar un complejo que convierte a la Protrombina en Trombina. Finalmente, la Trombina convierte el Fibrinógeno en Fibrina. El Factor Va está controlado por la Proteína C activada (APC) evitando que los coágulos generados se incrementen demasiado. La APC ejerce su acción provocando escisiones en lugares específicos del Factor V.

La forma más frecuente de trombofilia hereditaria se debe al **Factor V de Leiden** en donde la sustitución del nucleótido G por el nucleótido A en la posición 1601 en el gen F5 (c.1601G>A - rs6025¹) provoca el reemplazo en la proteína (Factor V) de una Arginina por una Glutamina en la posición 504 (p.Arg504Gln/R504Q²). De esta forma el Factor Va anómalo no puede inactivarse por la APC, continúa activado y aumenta la probabilidad de trombogénesis. El riesgo de las manifestaciones del proceso depende del número de copias genómicas alteradas por cada célula, de forma que si únicamente presenta la mutación uno de los dos alelos (heterocigótico), el riesgo de manifestar el proceso es menor, que cuando las copias de ambos alelos están afectadas (homocigótico).

La **Protrombina o Factor II** es el precursor de la Trombina, el efector final de la cascada de la coagulación que conduce a la formación de Fibrina. La Protrombina es una enzima clave ya que promueve la coagulación por retroalimentación positiva y la anticoagulación mediante la activación de la vía de la Proteína C. La presencia de la sustitución del nucleótido G por el nucleótido A en la posición 97 en la región 3' no codificante del gen F2 (c.*97G>A - rs1799963³) que codifica para la Protrombina humana, está asociada con un aumento de los niveles plasmáticos de la proteína con el consecuente incremento en el riesgo (2,8 veces) de desarrollar trombosis venosa, infarto de miocardio y trombosis en venas cerebrales. El riesgo de las manifestaciones del proceso depende del número de copias genómicas alteradas por cada célula. Las personas que presentan la mutación en uno de los dos alelos (heterocigótico) tienen 6 veces más probabilidades de sufrir una trombosis que la población normal. Las mujeres jóvenes portadoras de la mutación tienen un riesgo 4 veces mayor de sufrir un infarto de miocardio, mientras que en los hombres el riesgo se incrementa en 1,5 veces. Este riesgo se incrementa aún más si se da el uso de anticonceptivos, la terapia de estrógenos, el tabaquismo, la diabetes o la hipertensión arterial.

¹ NM_000130.4(F5): c.1601G>A (p.Arg534Gln). NCBI. ClinVar. [VCV000000642.120].

² También se la puede encontrar con su denominación anterior R506Q.

³ NM_000506.5(F2): c.*97G>A. NCBI. ClinVar. [VCV000013310.114]. También se la puede encontrar con su denominación anterior G20210A o 20210G-A.



detx mol


Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETx MOL S.A.




Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

detx mol

USO PREVISTO

Método de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa y discriminación de los alelos normal y mutado para la variante c.1601G>A del gen F5 (rs6025), conocida como Factor V Leiden, y la variante c.*97G>A del gen F2 (rs1799963), conocida como mutación G20210A y asociada a deficiencia de Protrombina, en pacientes con sospecha de trombofilia y síntomas asociados a partir de muestras de sangre entera.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El **MultiTarget® THR KIT** se basa en la tecnología de Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR) para la detección específica de los alelos con y sin las variantes c.1601G>A (rs6025) en el gen F5 o G20210A (rs1799963) en el gen F2.

A partir de ADN genómico (ADNg) purificado de sangre entera anticoagulada con EDTA, se realiza la amplificación mediante qPCR utilizando cebadores específicos y sondas de hidrólisis. Estas sondas son oligonucleótidos conjugados con un fluoróforo en el extremo 5' y una molécula extintora (*quencher*) en el extremo 3' la cual por transferencia de energía de resonancia fluorescente inhibe la emisión del fluoróforo cuando se encuentra cercana. La mezcla de reacción contiene dUTP y la enzima UNG para evitar la contaminación residual (*carryover*). La reacción se lleva a cabo mediante la acción de una enzima *Hot-Start Fast* ADN polimerasa con actividad exonucleasa y tolerante a los inhibidores más comunes, que provoca la degradación de la sonda separándose el fluoróforo de la molécula extintora. El aumento de la señal de fluorescencia resultante por acumulación del ADN templado es detectado por el instrumento de qPCR en los canales:

- HEX/JOE/VIC para detección del alelo no mutado del Factor II o del Factor V,
- FAM para detección del alelo mutado del Factor II o del Factor V.

Además, se provee un control positivo para los alelos mutados y no mutados de los genes F5 y F2, y agua libre de nucleasas para su uso como control de reactivos a fin de validar cada ensayo.

CONTENIDO DEL KIT

TH1-OLIGOMIX: mezcla de oligonucleótidos antisentidos para la amplificación específica de alelos del gen F5 y F2. Presentación: seco. Color de tapa: azul.

OLIGO-FV: mezcla de oligonucleótidos sentidos y sondas para la amplificación específica de alelos del gen F5. Presentación: seco. Color de tapa: verde.

OLIGO-FII: mezcla de oligonucleótidos sentidos y sondas para la amplificación específica de alelos del gen F2. Presentación: seco. Color de tapa: amarillo.

MASTERMIX FP 5X: mezcla de reacción que contiene todos los componentes para la reacción de amplificación (buffer de reacción, dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dUTP), Hot-Start Fast DNA polimerasa, MgCl₂, UNG, agentes aditivos que maximizan la eficiencia de la PCR, estabilizantes y conservantes). Presentación: líquido. Color de tapa: marrón.

TH1-CTRL POS: Control Positivo que consiste en secuencias de ácidos nucleicos específicas con y sin las variantes c.1601G>A (rs6025) y G20210A (rs1799963) en los genes F5 y F2, respectivamente. Presentación: líquido. Color de tapa: rojo.

AGUA DNase/RNase free: agua libre de nucleasas. Presentación: líquido. Color de tapa: sin color.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS POR EL KIT

- Sistema comercial de purificación de ADN genómico (mediante columnas de sílica o partículas magnéticas).

El **MultiTarget® THR KIT** fue verificado en los siguientes sistemas comerciales:

- NucleoSpin® Blood, Mini kit for DNA from blood (cod. 740951.50), Macherey-Nagel (Alemania).
- Highway® ADN PuriPrep-S Kit (cod. K1205), Inbio Highway (Argentina).
- MagNA Pure™ 24 Total NA Isolation Kit (cod. 07658036001), Roche Molecular Systems, Inc. (Suiza).
- MagCore® Genomic DNA Whole Blood (cod. 102), RBCBioscience (Taiwan).

- Micropipetas de volumen variable.
- Tips con filtro libres de nucleasas.
- Tubos de microcentrífuga (x 1,5 o 2 ml) libres de nucleasas.
- Gradilla para tubos de 1,5 ml o 2 ml.
- Guantes descartables látex, vinilo o nitrilo sin polvo.
- Soporte de reacción acorde al Instrumento de qPCR que se utilice (ej. microplacas con films ópticos, tubos de qPCR, etc.).
- Recipiente para el descarte de material biológico.
- Equipo de protección personal.

EQUIPOS NECESARIOS NO PROVISTOS POR EL KIT

- Termociclador o instrumento de qPCR siempre que cuenten con canal de detección de fluorescencia para FAM y HEX/JOE/VIC.

El **MultiTarget® THR KIT** fue verificado en los siguientes equipos:

- Step One Plus™ (Applied Biosystems).
- CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Biorad).
- Mic® qPCR Thermal Cycler- 4 (Biomolecular Systems).
- QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific).
- cobas® z 480 analyzer (Roche Molecular Systems, Inc.)

- Agitador vórtex.
- Microcentrífuga de mesa con rotor para tubos de 1,5 a 2 ml.

CONDICIONES DE CONSERVACIÓN

CONDICIONES DE TRANSPORTE, ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DEL KIT

El kit se puede transportar en forma refrigerada (2 - 10 °C). Una vez recibido, almacenar el kit completo a -20 °C hasta la fecha de vencimiento indicada en el rótulo de la caja.

CONDICIONES DE CONSERVACIÓN DEL KIT UNA VEZ ABIERTO

Una vez resuspendidos los reactivos que vienen secos, también conservarlos a -20 °C y protegidos de la luz.

Para la utilización de los reactivos líquidos, se sugiere descongelar previamente a 2 - 8°C no más de 20 minutos previo a su uso.

Evitar los repetidos ciclos de congelamiento/descongelamiento de los reactivos (no más de 10 ciclos) ya que pueden causar pérdida de reactividad.

En caso de no usar regularmente los reactivos reconstituidos, es aconsejable dividirlos en alícuotas y colocar las mismas a -20 °C, teniendo en cuenta la utilización de material libre de nucleasas.

Los reactivos son estables hasta la fecha de vencimiento impresa en los rótulos, no pudiendo ser utilizados con posterioridad. Todos los reactivos deben ser conservados de -18 a -25°C y protegidos de la luz.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES SOBRE SU USO

ADVERTENCIAS

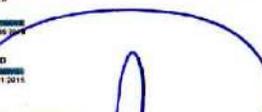
- El procesamiento del ensayo debe llevarse a cabo únicamente por **personal profesional calificado**, cumpliendo con las buenas prácticas de laboratorio y procedimientos de Biología Molecular (áreas separadas de procesamiento de muestras, pre y post amplificación, flujo del trabajo, uso de material apropiado, etc.).
- Los reactivos son **solamente para uso diagnóstico "in vitro"**.
- Lea atentamente las instrucciones de uso antes de realizar el ensayo para obtener resultados óptimos.
- Todos los reactivos líquidos o los reconstituidos deben descongelarse completamente, homogeneizarse suavemente (evitando formación de espuma) y centrifugarse brevemente antes de iniciar el ensayo.
- No usar los reactivos luego de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes ni modificar los procedimientos del ensayo.
- No emplear reactivos de origen diferente al indicado.
- No someter el producto a ciclos repetidos de congelado/descongelado.
- En caso de daños visibles en los envases, no utilizar el producto.
- El control positivo provisto no constituye material potencialmente infeccioso y no debe utilizarse para verificar el desempeño de otros productos similares del mercado.



detx mol


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.




Biol. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

detx mol

- Es recomendable verificar el Sistema comercial de purificación de ADN genómico o el equipo de qPCR si es diferente al detallado por el fabricante.
- Una vez utilizado el kit, deberá desecharlo según la legislación vigente, teniendo en cuenta que dentro de sus componentes no contiene sustancias peligrosas, infecciosas o tóxicas que estén sometidas a normas de seguridad especiales, y que el embalaje está fabricado de papel y de polipropileno. En caso de cualquier duda contacte con nuestro departamento de atención al cliente.

PRECAUCIONES

- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo con la normativa local vigente.
- Extremar los cuidados para evitar que los reactivos sufran contaminación microbiana, con nucleasas o sustancias inhibitorias cuando se introduzcan elementos dentro de los mismos.
- Si el sistema de purificación de ADN a utilizar contiene soluciones de lavado con etanol, asegurar la eliminación de posibles trazas del mismo antes de eluir el ADN ya que inhibe la reacción de qPCR.
- Las muestras de pacientes, los controles y los tubos de reacción usados deben manipularse como desechos infecciosos. Todos los reactivos deben descartarse conforme a las normativas legales.
- Utilice tips con filtro y evite tocar el extremo de la pipeta y/o los tips con los dedos.
- Utilice guantes libres de polvo y equipo de protección biológica.
- Para más información contáctese con el elaborador para que se le provea la respectiva hoja de seguridad.

MUESTRA: CONSIDERACIONES GENERALES

El correcto funcionamiento del producto depende de la adecuada extracción, transporte y conservación del material genético (**ADN genómico**) presente en la muestra (**sangre entera anticoagulada con EDTA**). Para ello se debe utilizar un método de extracción apropiado para cada tipo de muestra. Tenga en cuenta las instrucciones del fabricante.

RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

La toma de muestra debe ser realizada utilizando material estéril y guantes descartables. No se requiere preparación especial del paciente. Se recomienda la extracción por venopunción de 3 ml de sangre periférica que deben ser colocadas en un tubo con EDTA. Es posible almacenar la muestra clínica durante 3 días en heladera a una temperatura entre +2°C y +8°C. En caso de almacenamiento prolongado mantenga las muestras a una temperatura de -20 ± 5°C. Evite más de un ciclo de congelamiento y descongelamiento, mediante el fraccionamiento en alícuotas. El procedimiento se debe realizar en condiciones de seguridad adecuadas para manejo de material infeccioso (según los documentos M29 - *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections* del NCCLS y *Laboratory Biosafety Manual 4th edition* de la WHO). Mientras que el uso de heparina como anticoagulante puede afectar el desempeño del ensayo, el uso de citrato sódico no lo afectó significativamente.

OBTENCIÓN DEL ADN GENÓMICO.

Se debe realizar según los requerimientos e instrucciones del fabricante del sistema de extracción utilizado, el cual debe ser compatible con la metodología de qPCR, asegurando una alta calidad del ADN purificado (radio $A_{260/280}$ entre 1,8 y 2,0).

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO DEL ADN.

Los ensayos moleculares son particularmente sensibles a las condiciones preanalíticas subóptimas, por lo cual la calidad del ADN a utilizar es fundamental. Un almacenamiento temporal del ADN purificado (hasta 2 horas) entre 2°C y 10°C es posible hasta el momento de su utilización. Si es necesario conservarlo por un período mayor de tiempo, se recomienda guardar entre -18 °C y -25 °C, idealmente a -70 °C. Evite más de un ciclo de congelamiento y descongelamiento, mediante el fraccionamiento en alícuotas.

El incorrecto almacenamiento del ADN y los repetidos ciclos de congelamiento y descongelamiento, pueden afectar su integridad y causar pérdida de desempeño y/o resultados falsos negativos.

PROCEDIMIENTO

1. OBTENCIÓN DEL ADN GENÓMICO

EN EL ÁREA DE MUESTRAS, realizar la extracción del ADN utilizando los sistemas de extracción diseñados a tal efecto, manuales o automatizados, disponibles en el mercado. En caso de no emplear uno de los métodos verificados por el fabricante, se recomienda evaluar su desempeño. Más información en el apartado MUESTRA. CONSIDERACIONES GENERALES.

2. RECONSTITUCIÓN DE LOS REACTIVOS SECOS

- Centrifugar brevemente los tubos para evitar pérdidas de reactivo al abrirlos.
- **EN EL ÁREA DE PRE-PCR**, reconstituir los reactivos **THR-OLIGOMIX**, **OLIGO-FV** y **OLIGO-FII** utilizando el reactivo **AGUA DNase/ RNase free** con los volúmenes indicados en cada rótulo.
- Homogeneizar con vórtex por 30 segundos y centrifugar brevemente antes de usar.
- Mantener en frío los reactivos reconstituidos durante su uso.
- Guardar los reactivos reconstituidos a -20 °C luego de su uso.

3. PREPARACIÓN DE LA MEZCLA DE REACCIÓN

- Centrifugar brevemente los tubos para evitar pérdidas de reactivo al abrirlos.
- **EN EL ÁREA DE PRE-PCR**, descongelar el reactivo **MASTERMIX FP 5X** por completo, mezclar suavemente evitando formación de espuma y centrifugar brevemente antes de su uso.
- Mantener en frío durante su uso.
- Preparar la mezcla de reacción siguiendo las proporciones que indica la tabla, teniendo en cuenta el número de reacciones a realizar en el ensayo.



detx mol


Dr. DIEGO CHOURY
Apoderado
DETx MOL S.A.



detx mol


Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

FACTOR V LEIDEN - MEZCLA DE REACCIÓN	
REACTIVO	VOLUMEN POR REACCIÓN
TH1-OLIGOMIX	2 µl
OLIGO-FV	2 µl
MASTERMIX FP 5X	4 µl
AGUA DNase/RNase free	7 µl

FACTOR II G20210A - MEZCLA DE REACCIÓN	
REACTIVO	VOLUMEN POR REACCIÓN
TH1-OLIGOMIX	2 µl
OLIGO-FII	2 µl
MASTERMIX FP 5X	4 µl
AGUA DNase/RNase free	7 µl

- Dispensar 15 µl de la mezcla de reacción en cada tubo/pocillo de reacción.
- **EN EL ÁREA DE PRE-PCR**, agregar a cada tubo/pocillo de reacción correspondiente:
 - **Muestras a analizar:** 5 µl de ADN genómico purificado correspondiente a cada muestra. Para obtener un desempeño óptimo en la reacción de amplificación, se recomienda que la concentración de ADN sea de 1,0 a 100 ng/µl (de 5 a 500 ng en total (rango óptimo: 2,0 a 50 ng/µl), según lo determinado por espectrofotometría UV (1 OD = 50 µg de ADN/ml).
 - **Control de Reactivo (NTC):** 5 µl del reactivo AGUA DNase/RNase free.
- **EN EL ÁREA DE PCR**, agregar 5 µl del reactivo TH1-CTRL POS al pocillo/tubo de reacción correspondiente al **Control Positivo (CP)**.
- El volumen final de reacción es de 20 µl.
- Cerrar los tubos/pocillos de reacción y, si es necesario, centrifugue brevemente antes de introducir en el instrumento de qPCR.

4. PROGRAMACIÓN DEL TERMOCICLADOR

- Es necesario tener información básica respecto al manejo y programación del instrumento de qPCR a utilizar, por lo cual se recomienda referirse al manual correspondiente.

CONDICIONES GENERALES	VOLUMEN POR REACCIÓN
Programa	Cuantificación absoluta
Volumen de reacción	20 µl
Colorante de referencia pasivo*	No contiene
Tipo de enzima (Taq)	Fast
Tipo de química	Sonda de hidrólisis
Canales de detección ($\lambda_{abs}/\lambda_{em}$)	FAM (492 nm / 516 nm) HEX/JOE/VIC (530 nm / 550 nm)
*Solo utilizar en equipos que requieran colorantes pasivos	

PROGRAMA DE AMPLIFICACIÓN Y DETECCIÓN				
Etapa	Temperatura	Tiempo (min:seg)	Nº Ciclos	Adquisición
Desnaturalización/Activación	95 °C	3:00	1	---
Ciclos de amplificación	95 °C	0:05	40	---
	62 °C *	0:20		SI

* Para CFX96™ (Biorad) se recomienda usar una temperatura de 60°C para obtener mejores resultados.

5. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

- Es importante tener información básica respecto al procedimiento de análisis de datos del *software* del instrumento de qPCR utilizado, por lo cual se recomienda referirse al manual correspondiente.
- Para el análisis de las curvas de amplificación, se deberá establecer de forma correcta los siguientes parámetros que influyen en la determinación del valor de Ct (ciclo que supera el valor umbral de fluorescencia) para cada muestra:
 - línea de base (baseline):** debe comprender los ciclos de PCR en los cuales la señal de fluorescencia se encuentra por debajo de los límites de detección del instrumento (normalmente un rango de valores de Ct desde 3 a 15).
 - valor umbral de fluorescencia (threshold):** fijar en la fase exponencial de las curvas de amplificación de las muestras para el templado que se analiza. Por lo general, se fija alrededor del 10% respecto a la fluorescencia máxima del *plateau* general de las curvas de amplificación.

6. CRITERIOS DE VALIDACIÓN DEL ENSAYO

Una vez definidos los parámetros anteriores, el ensayo se considera válido si se cumplen simultáneamente las siguientes condiciones:

CONTROL	Valor de Ct en canal FAM (alelo mutado)	Valor de Ct en canal HEX/JOE/VIC (alelo normal)
CP	≤ 32	≤ 32
NTC	> 40	> 40

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- Se considera DETECTABLE para un alelo cuando en los canales FAM y/o HEX/JOE/VIC se observa una curva de amplificación que cruza el umbral (*threshold*) dando lugar a un valor de Ct \leq 38.
- Se considera muestra NO DETECTABLE para un alelo cuando en los canales FAM y/o HEX/JOE/VIC, la curva de fluorescencia no cruza el umbral (*threshold*) dando lugar a la ausencia de Ct o lo cruza con un valor de Ct $>$ 38.

Canal FAM (alelo mutado)	Canal HEX/JOE/VIC (alelo normal)	RESULTADO	INTERPRETACIÓN
Ct \leq 38	ND o Ct $>$ 38	Válido	Alelo mutado detectado
Ct \leq 38	Ct \leq 38	Válido	Alelos mutado y normal detectados
ND o Ct $>$ 38	Ct \leq 38	Válido	Alelo normal detectado
ND o Ct $>$ 38	ND o Ct $>$ 38	Inválido	REPETIR

- La Figura 1 muestra curvas de amplificación para ambos alelos en la detección del Factor V Leiden y Factor II G20210A en los distintos resultados posible.
- En instrumentos de qPCR con *softwares* gráficos que muestran curvas de amplificación de distintos canales en simultáneo (por ejemplo, QuantStudio™ 3 Real-Time PCR), para muestras homocigotas (presencia de un único tipo de alelo) se puede observar señal fluorescente en el canal de lectura del alelo no presente sin forma sigmoidea que no indica amplificación específica. (ver Figura 1).
- En caso de que una muestra resulte de interpretación dudosa, se recomienda repetir el ensayo a partir de una nueva purificación del ADN o recolectar una nueva muestra del paciente. En caso de resultado inválido ver ESPECIFICIDAD ANALÍTICA.

LIMITACIONES DEL ENSAYO

- Cualquier resultado diagnóstico obtenido con este kit debe ser interpretado en conjunto con otros hallazgos clínicos y/o de laboratorio.
- El incumplimiento del procedimiento del ensayo puede afectar negativamente el rendimiento y/o invalidar el resultado del mismo.
- Los resultados falsos negativos pueden deberse a: recolección y/o conservación inadecuada de las muestras clínicas; degradación del DNA durante el envío o almacenamiento en condiciones inadecuadas; la presencia de inhibidores, error al seguir las instrucciones de uso, etc.

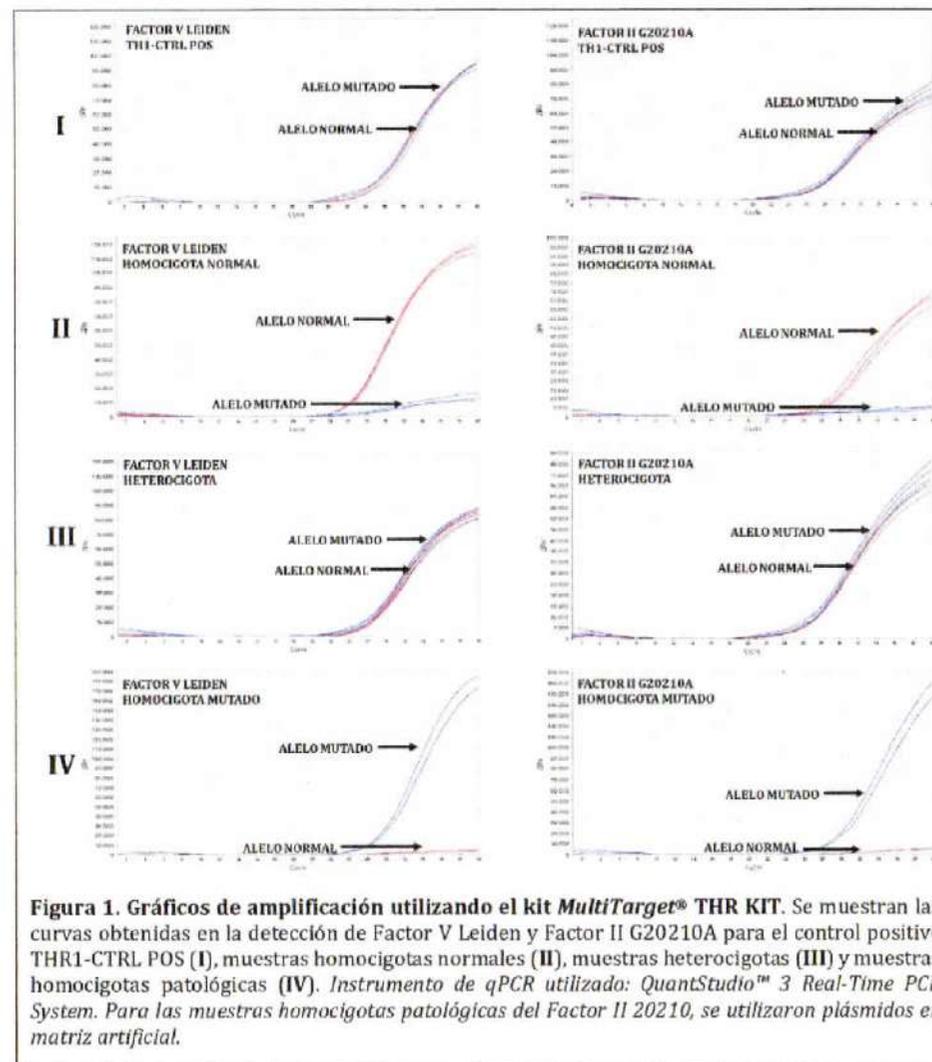


Figura 1. Gráficos de amplificación utilizando el kit *MultiTarget®* THR KIT. Se muestran las curvas obtenidas en la detección de Factor V Leiden y Factor II G20210A para el control positivo THR1-CTRL POS (I), muestras homocigotas normales (II), muestras heterocigotas (III) y muestras homocigotas patológicas (IV). Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System. Para las muestras homocigotas patológicas del Factor II 20210, se utilizaron plásmidos en matriz artificial.

CONTROL DE CALIDAD

Se deben incluir en cada ensayo, al menos un Control Positivo (5µl del reactivo **TH1-CTRL POS**) y un Control de Reacción (5µl del reactivo **AGUA DNase/RNase free**). Ambos reactivos se encuentran incluidos en el kit. Para que el ensayo sea válido, es requisito que los resultados para los 2 controles sean los correctos, de lo contrario, deberá repetirse el ensayo.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

1. ESPECIFICIDAD *IN SILICO*

El análisis *in silico* de los oligonucleótidos incluidos en **MultiTarget® THR KIT** mostró que los mismos se hibridan con un 100% de identidad con su *target* específico (excepto para las sondas que contienen el alelo mutado, donde la hibridación es con un 94,11% y 95,24% de homología para los genes F2 y F5, respectivamente). Este análisis también reveló una potencial hibridación de los oligonucleótidos en zonas no específicas del genoma humano, pero en condiciones que no permite la correcta amplificación y detección. Por lo tanto, se concluye que por predicción *in silico*, el ensayo amplificaría específicamente las regiones esperadas de los genes F2 y F5, y detectaría específicamente los alelos normales y mutados de los mismos.

2. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Para determinar el efecto de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) conocidos cercanos a las variantes en estudio (variantes estrechamente relacionadas) y evaluar la reactividad cruzada, se utilizaron los siguientes ADN plasmídicos a una concentración de 100.000 copias/reacción:

NOMBRE	VARIANTE	ALELO
pFII-WT		G
pFII-MUT	NM_000506.4: c.*97G>A - rs1799963	A
pFII-ESP1	NM_000506.5: c.*96C>T - rs72550707	T
pFII-ESP2	NM_000506.4: c.*100C>T - rs112016113	T
pFII-ESP3	NC_000011.10: g.46739513A>G - rs1389826595	G
pFV-WT		G
pFV-MUT	NM_000130.4: c.1601G>A - rs6025	A
pFV-ESP1	NM_000130.4: c.1607T>A (p.Ile536Lys) - rs1463895656	A
pFV-ESP2	NM_000130.4: c.1600C>T (p.Arg534Ter) - rs770011773	T
pFV-ESP3	NM_000130.4: c.1599G>A (p.Arg533=) - rs946421075	A

Ninguno de los plásmidos ESP (ESP1, ESP2 y ESP3) causó resultados falsos positivos para las variantes del Factor II G20210A o del Factor V Leiden, ni interfirió con la detección de las secuencias de tipo salvaje.

La presencia de las variantes c.*96C>T y c.*100C>T para Factor II, y c.1599G>A para Factor V en ambos alelos provocará resultados inválidos en el ensayo.

3. INESPECIFICIDAD CRUZADA

Para evaluar la ausencia de amplificación alélica de una variante en presencia de los oligonucleótidos de la otra variante, se utilizaron los ADN plasmídicos controles en concentración de 1×10^6 copias por tubo.

MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII		
pFV-WT (alelo G) 1x10 ⁶ cop/rxn	pFV-MUT (alelo A) 1x10 ⁶ cop/rxn	RESULTADO
SI	---	NO DET
SI	---	NO DET
---	SI	NO DET
---	SI	NO DET

MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV		
pFII-WT (alelo G) 1x10 ⁶ cop/rxn	pFII-MUT (alelo A) 1x10 ⁶ cop/rxn	RESULTADO
SI	---	NO DET
SI	---	NO DET
---	SI	NO DET
---	SI	NO DET

Los resultados indican que no existe inespecificidad cruzada entre los reactivos para las variantes estudiadas por el ensayo.

4. RANGO DINÁMICO

Para establecer el intervalo de concentraciones de ADN genómico purificado a emplear como molde que garantice valores de Ct reproducibles, se realizaron réplicas de muestras en distintas concentraciones de ADN genómico para establecer los límites de concentración inferior y superior a utilizar. Las muestras Homocigotas mutados de Factor II y Factor V fueron simuladas utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT).

Se establece un límite inferior de 1,0 ng/µl (5 ng/reacción) y un límite superior de 100 ng/µl (500 ng reacción). **Se recomienda como rango óptimo de concentración 1,0 a 50 ng/µl (5 a 250 ng/reacción) una relación A_{260/280} entre 1,8 y 2,0 según lo determinado por espectrofotometría UV.**

5. DESEMPEÑO CON SISTEMAS DE PURIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS.

A partir de un panel de 15 muestras clínicas (10 homocigotas normales y 5 heterocigotas para Factor II G20210A o Factor V Leiden) se obtuvo el ADN genómico utilizando 4 métodos comerciales de purificación de ácidos nucleicos. Cada eluato



DISPOSITIVOS
MÉDICOS
IRAM - ISO 13485:2015
GESTIÓN
DE LA CALIDAD
IRAM - ISO 9001:2015

detx mol

Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETx MOL S.A.



DISPOSITIVOS
MÉDICOS
IRAM - ISO 13485:2015
GESTIÓN
DE LA CALIDAD
IRAM - ISO 9001:2015

Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

detx mol

(ADN genómico purificado) se testeó en una única reacción por extracción con el **MultiTarget® THR KIT**. Los datos de cada kit utilizado se detallan a continuación:

Kit	VOLUMEN	
	MUESTRA	ELUCIÓN
NucleoSpin® Blood, Mini kit	200 µl	100 µl
Highway® ADN PuriPrep-S Kit	200 µl	100 µl
MagNA Pure™ 24 Total NA Isolation Kit	500 µl	100 µl
MagCore® Genomic DNA Whole Blood	200 µl	100 µl

Los resultados obtenidos fueron concordantes con los distintos kits de aislamiento y purificación de ADN genómico que fueron utilizados.

6. PRECISIÓN/VARIABILIDAD

Se realiza un **análisis 5 x 5 x 3** (guía CLSI EP05-A3) para obtener estimaciones de reproducibilidad (*variación entre ensayos*), repetibilidad (*variación intraensayo*) y precisión intra-laboratorio (*variación de instrumento*). Se empleó un panel de 5 muestras clínicas (3 homocigotas normales y 2 heterocigotas para Factor II G20210A o Factor V Leiden), 1 dilución apropiada ADN plasmídico (pII-MUT o pV-MUT) para simular una muestra homocigota mutado, el control positivo del kit (THR-CTRL POS) y el control de reactivos. El **MultiTarget® THR KIT** demostró una reproducibilidad, repetitividad y precisión intra-laboratorio del 100%.

7. ESTUDIO DE INTERFERENCIAS Y CONTAMINANTES

Se analizaron en muestras homocigota normal, el desempeño del ensayo partiendo de sangre entera anticoagulada con heparina (17 U/ml) y citrato (0,129 M), y en muestras heterocigotas la presencia de concentraciones elevadas de bilirrubina total (5,5 mg/dl) y triglicéridos (497 mg/dl).

Para fármacos, se agregó la potencial sustancia interferente (en concentraciones efectivas altamente superiores a las descriptas para su uso clínico) a alícuotas de sangre entera anticoagulada con EDTA de muestras heterocigotas y se procedió a la extracción del ADN genómico. Cada sustancia se ensayó por triplicado. Las sustancias ensayadas y sus concentraciones fueron: Aciclovir 10 mg/ml, Penicilina 1 mg/ml, Cefalexina 1 mg/ml, Ciprofloxacina 1 mg/ml, Diclofenac 1 mg/ml, Eritromicina 1 mg/ml, Fluconazol 1 mg/ml, Heparina 260 U/ml, Hidrocortisona 1 mg/ml, Ibuprofeno 1 mg/ml, Metronidazol 1 mg/ml, Paracetamol 1 mg/ml y Sulfametoxazol 1 mg/ml. Se evaluó por triplicado la presencia de etanol al 5% en el eluato obtenido de sangre entera anticoagulada con EDTA de muestras heterocigotas como contaminante del proceso de extracción.

Los resultados indican que, de todas las sustancias evaluadas, sólo en presencia de Heparina a altas concentraciones (260 U/ml) el rendimiento de **MultiTarget® THR KIT** se ve afectado (corrimiento de 2 a 3 Ct a valores mayores). Este corrimiento es menor a la concentración usada para anticoagular sangre entera (17 U/ml).

8. ESTUDIOS DE VERIFICACIÓN EN EQUIPOS qPCR.

Mientras los estudios de validación se realizaron en QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System (*Thermo Fisher Scientific*), se verificaron el rango dinámico recomendado y la precisión para el **MultiTarget® THR KIT** en los siguientes equipos de qPCR:

- Step One Plus™ (Applied Biosystems).
- CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Biorad).
- Mic® qPCR Thermal Cycler- 4 (Biomolecular Systems).
- cobas® z 480 analyzer (Roche Molecular Systems, Inc.)

Para ello se procedió a realizar pools de muestras homocigotas normales y heterocigotas para Factor II G20210A y Factor V Leiden. Las muestras homocigotas mutadas fueron simuladas utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT). Se incluyeron el control positivo (TH1-CTRL POS) y un control de reacción.

Los resultados obtenidos fueron concordantes para los distintos equipos de qPCR que fueron utilizados.

9. VALIDACIÓN CLÍNICA

Se emplearon muestras provenientes de dos laboratorios de análisis clínicos obtenidas de pacientes con sospecha de trombofilia. El ADN genómico de cada una fue analizado con el método de rutina utilizado en cada laboratorio, el ensayo **MultiTarget® THR KIT** y por secuenciación bidireccional por método Sanger (método de referencia). La concordancia porcentual positiva (PPA), la concordancia porcentual negativa (NPA) y la concordancia porcentual general (OPA) se estimaron a nivel de genotipo (homocigota normal, heterocigota y homocigota mutado) para el Factor II G20210A y el Factor V Leiden.

EVALUACIÓN CLÍNICA - FACTOR II G20210A						
ALELO NORMAL	ALELO MUTADO	GENOTIPO	N° muestras testeadas	N° resultados correctos	N° resultados incorrectos	
DET	NO DET	H.NOR	327	327	0	100% (NPA)
DET	DET	HET	29	29	0	100% (PPA)
NO DET	DET	H.MUT	0	0	0	100% (PPA)
TOTALES			356	356	356	100% (OPA)

REF: DET: detectable. NO DET: no detectable.
H.NOR: homocigota normal. HET: heterocigota. H.MUT: homocigota mutado.



detx mol



detx mol

Dr. DIEGO CHOUVY
Apoderado
DETx MOL S.A.

Bloq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

EVALUACIÓN CLÍNICA - FACTOR V LEIDEN

ALELO NORMAL	ALELO MUTADO	GENOTIPO	N° muestras testeadas	N° resultados correctos	N° resultados incorrectos	
DET	NO DET	H.NOR	306	306	0	100% (NPA)
DET	DET	HET	48	48	0	100% (PPA)
NO DET	DET	H.MUT	2	2	0	100% (PPA)
TOTALES			356	356	356	100% (OPA)

REF: DET: detectable. NO DET: no detectable.

H.NOR: homocigota normal. HET: heterocigota. H.MUT: homocigota mutado.

El ensayo **MultiTarget® THR KIT** demostró, para una cohorte de 356 muestras, una concordancia porcentual general (OPA) del 100,0 % en relación con la secuenciación bidireccional tanto para el Factor II G20210A como para el Factor V Leiden.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Verifique siempre antes de su uso:

- la fecha de caducidad del kit
- las condiciones de almacenamiento y manipulación
- los ajustes de la pipeta y del termociclador

HALLAZGO	POSIBLE MOTIVO Y ACCIÓN CORRECTIVA
Se detecta señal baja en un canal incorrecto para homocigotos normal y/o mutado.	Emisión de señal inespecífica que en algunos equipos puede interpretarse como un resultado detectable para el alelo. Aumente el valor umbral justo por encima de la señal no específica para la genotipificación alélica correctamente.
Se detecta una señal en la reacción del Control de Reacción (NTC).	Posible contaminación con productos de amplificación en concentración elevada (> 10.000 copias/reacción). Repetir el análisis.
No se detectó señal en la reacción del Control Positivo.	Descarte un error de pipeteo. Repetir el análisis.
En la muestra examinada, se detecta una señal con Ct > 38.	Posible escasa cantidad de ADN genómico en el eluato utilizado. Verifique que la concentración esté dentro del rango recomendado. En caso contrario, prepare un nuevo aislado de ADN genómico.
En la muestra examinada, se detecta una señal con baja intensidad de fluorescencia.	Posible elevada cantidad de ADN genómico en el eluato utilizado. Verifique que la concentración esté dentro del rango recomendado. En caso contrario, diluya la muestra o prepare un nuevo aislado de ADN genómico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Price DT, Ridker PM. *Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic disease: a clinical perspective.* Ann Intern Med. 1997 Nov 15;127(10):895-903. PMID: 9382368.
- Kujovich JL. *Factor V Leiden thrombophilia.* Genet Med. 2011 Jan;13(1):1-16. PMID: 21116184.
- Pajič T. *Factor V Leiden and FII 20210 testing in thromboembolic disorders.* Clin Chem Lab Med. 2010 Dec;48 Suppl 1:S79-87. Epub 2010 Nov 22. PMID: 21091236.
- Cooper PC, Rezende SM. *An overview of methods for detection of factor V Leiden and the prothrombin G20210A mutations.* Int J Lab Hematol. 2007 Jun;29(3):153-62. PMID: 17474891.
- Pajič T. *Testing for Factor V Leiden (FVL) and Prothrombin G20210A Genetic Variants.* Methods Mol Biol. 2023;2663:233-251. PMID: 37204714.
- Albagoush SA, Koya S, Chakraborty RK, Schmidt AE. *Factor V Leiden Mutation.* 2023 Apr 8. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 30521223.
- Asmis L, Hellstern P. *Thrombophilia Testing - a Systematic Review.* Clin Lab. 2023 Apr 1;69(4). PMID: 37057948.

MARCAS COMERCIALES Y AVISO LEGAL

MultiTarget® (DETx MOL S.A.); **ABI Prism®**, **QuantStudio™**, **Step One Plus™** (Applied Biosystems); **CFX96 TOUCH™ REAL-TIME PCR DETECTION SYSTEM** (Bio-Rad); **LightCycler®**, **cobas®**; **MagNA Pure™** (Roche); **FAM™**, **JOE™**, **VIC™** (Thermo Fisher Scientific); **NucleoSpin®** (Macherey-Nagel); **Highway®** (Inbio Highway); **MagCore®** (RBCBioscience); **Mic®** (Biomolecular Systems).

Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. usados en este documento, incluso si no están marcados específicamente como tales, no se deben considerar privados de protección legal.

El **MultiTarget® THR KIT** es un kit de diagnóstico con marcado IVD de conformidad con las directivas de A.N.M.A.T de diagnóstico in vitro.

No disponible en todos los países.

© 2024 DETx MOL S.A.; reservados todos los derechos.

CÓDIGO QR

El código de barras en 2D (código QR) en la portada de este manual de instrucciones y en la tarjeta que acompaña al kit permite el acceso a la versión última del protocolo del ensayo para el uso del **MultiTarget® THR KIT**.

El código QR solo se puede escanear en forma impresa. Puede escanear el código directamente desde la tarjeta que acompaña al kit o imprimirlo en una hoja independiente. Tenga en cuenta que el tamaño de la impresión afecta a la capacidad de escaneo del código de barras. Asegúrese de que el tamaño de la escala es del 100 %.



detx mol

Dr. DIEGO CHOUH

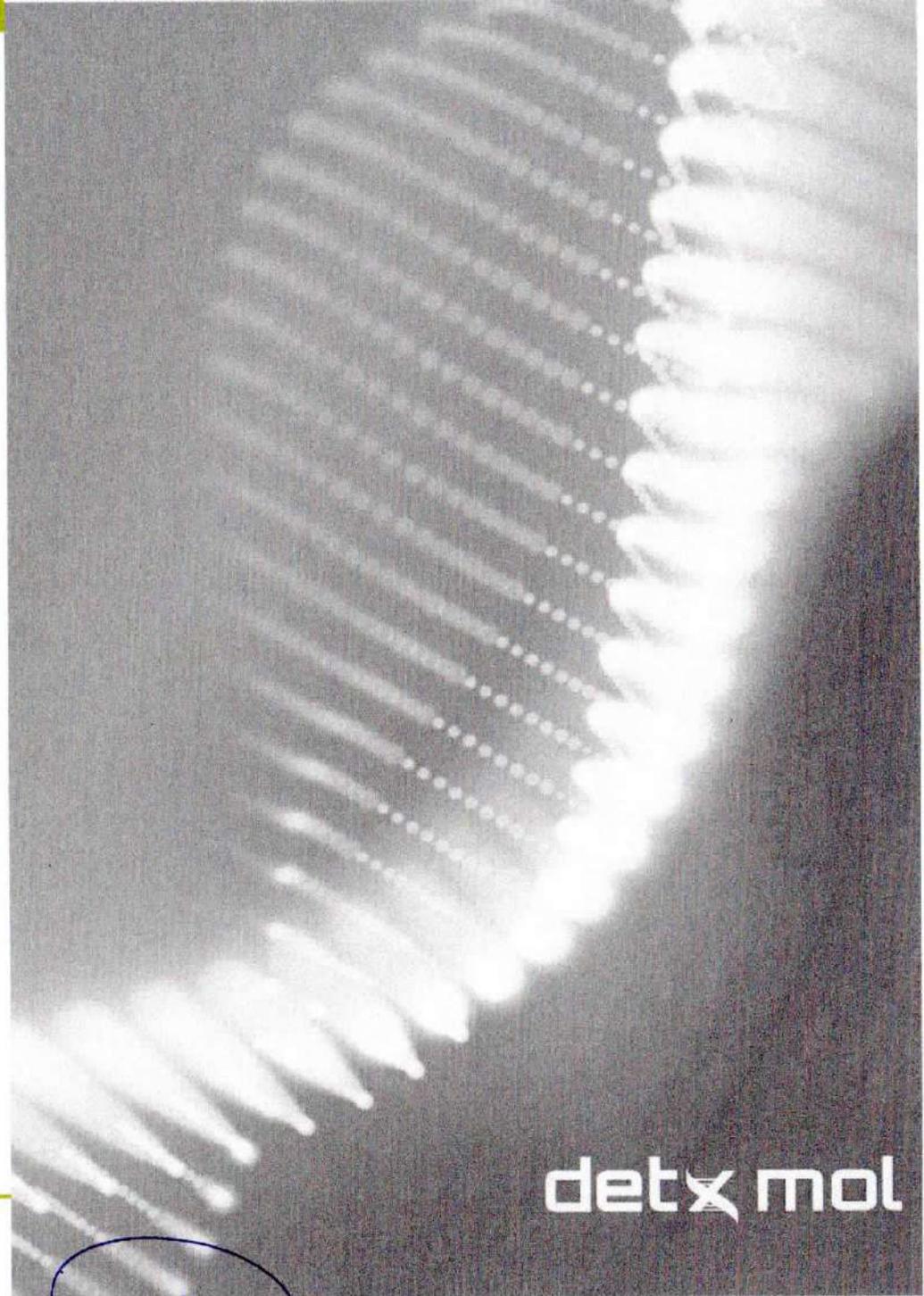
Apoderado
DETx MOL S.A.



Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

detx mol

HOJA EN BLANCO

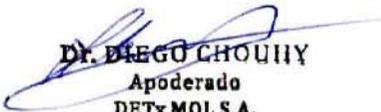


detx mol



DEPOSITARIOS
MÉDICOS
IRAM - ISO 1100:2018
GESTIÓN
DE LA CALIDAD
IRAM - ISO 9001:2015

detx mol


DR. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETx MOL S.A.

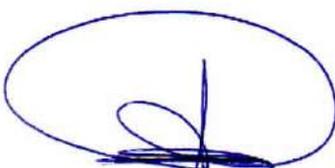

Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

En el siguiente documento se describen los ensayos que sustentan el dossier o manual de instrucciones sobre la evaluación de desempeño del **MultiTarget® THR KIT** previsto en la Disposición ANMAT N° 2674/99 y sus modificatorias, según corresponda, considerándose válidos los ensayos realizados en origen”.

Detalla la siguiente información que cumplimenta los puntos 1 a 5 del ítem REFERENCIAS DEL PRODUCTO -Anexo I- de la aludida Disposición ANMAT:

1. Especificidad <i>in silico</i>	pág. 1
1.1. Análisis <i>in silico</i> con secuencia completa del genoma humano	pág. 1
1.2. Análisis <i>in silico</i> con secuencias de patógenos relacionados	pág. 5
2. Especificidad analítica (Estudio de mutaciones potencialmente interferentes)	pág. 7
3. Inespecificidad cruzada	pág. 9
4. Rango dinámico (concentración de ADN genómico)	pág. 9
5. Desempeño con sistemas de purificación de ácidos nucleicos	pág. 19
6. Precisión/Variabilidad	pág. 20
7. Estudio de interferencias y contaminantes	pág. 32
8. Estudios de verificación en equipos de qPCR	pág. 34
9. Validación clínica	pág. 37
10. Validación de la estabilidad	pág. 49
10.1. Marco normativo	pág. 49
10.2. Documento interno del Sistema de Gestión de la Calidad	pág. 49
10.3. Equipos	pág. 49
10.4. Estudio de estabilidad acelerada	pág. 49
10.5. Estudio de simulación del transporte	pág. 60
10.6. Estudio de ciclos de congelado/descongelado	pág. 65
10.7. Estudio de Estabilidad de vida útil	pág. 70
10.8. Estudio de estabilidad de vida en uso	pág. 70


Diego Chouhy
Responsable legal


Germán R. Perez
Director Técnico

1. ESPECIFICIDAD *IN SÍLICO*.

El gen F2 que codifica la Protrombina o Factor II se encuentra situado en el brazo corto del cromosoma 11 humano (11p11), mientras que el gen F5 que codifica el Factor V se encuentra en el brazo corto del cromosoma 1 humano (1q23). En el análisis *in silico*, se comparan las secuencias de los oligonucleótidos que forman parte del kit (cebadores y sondas) con 2 bases de datos:

A. la secuencia completa del genoma humano de referencia GRCh38.p14 la cual presenta secuencias correspondientes a los alelos normales de los genes F2 y F5.

B. las secuencias nucleotídicas de los genomas completos de los principales patógenos relacionados al tipo de muestra a partir de la que se obtiene el ADN genómico para realizar el ensayo.

1.1. ANÁLISIS *IN SÍLICO* CON SECUENCIA COMPLETA DEL GENOMA HUMANO.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS: se utilizó la aplicación en línea de comandos NCBI blast+ (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), utilizando como "query" la secuencia de oligonucleótidos incluidos en el MultiTarget® THR KIT, y como "subject" la última versión disponible de la secuencia de genoma humano (GRCh38 Genome Reference Consortium Human Build 38 (GCF_000001405.40_GRCh38.p14_genomic.fna) descargada desde NIH-NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000001405.40/).

Una vez obtenidos los archivos de salida del programa, se procedió al análisis de los mismos mediante planillas de Microsoft Excel, evaluando los parámetros de porcentaje de similitud, número de discordancias (*mismatch*) y la posición de emparejamiento (hibridación) de los oligonucleótidos en el "subject".

Los resultados se detallan en la **TABLA 1** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

TABLA 1A. ANÁLISIS DE OLIGONUCLEÓTIDOS - FACTOR V LEIDEN

Nombre del oligonucleótido	Longitud oligo	Cromosoma	% similitud	E-value	Longitud de emparejamiento	Nº de discordancia	Posición de emparejamiento		Nº de discordancia extremo 3'
							inicio	final	
FV_DC-F2	22	1	100,00	3	22	0	1	22	0
FV_DC-F2	22	1	94,74	58	19	1	2	20	2
FV_DC-PWt_YAK	21	1	100,00	10	21	0	1	21	0
FV_DC-R2	25	1	100,00	0,006	25	0	1	25	0
FV_DC-R2	25	1	100,00	16	17	0	1	17	8
FV_DC-R2	25	1	100,00	16	17	0	8	24	1
FV_DC-R2	25	1	100,00	16	17	0	7	23	2
FV_DC-R2	25	1	100,00	58	16	0	1	16	9
FV_DC-R2	25	1	90,91	58	22	2	1	22	3
FV_DC-R2	25	1	100,00	58	16	0	1	16	9
FV_DC-R2	25	1	94,74	58	19	1	3	21	4
FV_DC-R2	25	1	100,00	58	16	0	2	17	8
FV_DC-R2	25	1	94,74	58	19	1	2	20	5
FV_M1-PMut_FAM	21	1	95,24	45	21	1	1	21	0
FV_M1-PMut_FAM	21	1	100,00	58	16	0	6	21	0
FV_DC-F2	22	2	100,00	58	16	0	5	20	2
FV_DC-R2	25	2	95,00	16	20	1	2	21	4
FV_DC-R2	25	2	100,00	58	16	0	4	19	6
FV_DC-R2	25	2	95,00	58	20	0	3	21	4
FV_DC-R2	25	2	94,74	58	19	1	6	24	1
FV_DC-R2	25	2	100,00	58	16	0	1	16	9
FV_DC-R2	25	2	94,74	58	19	1	6	24	1
FV_DC-F2	22	3	100,00	58	16	0	6	21	1
FV_DC-R2	25	3	95,00	16	20	1	1	20	5
FV_DC-R2	25	3	100,00	45	18	0	4	21	4

Blog. GERMAN PEREZ

Director Técnico

Dr. DIEGO CHOCHY

Apoderado

Piso 3, Campus Corporativo Cooper Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

DET x MOL S.A.

DET x MOL S.A.

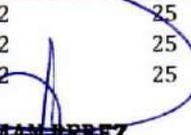
TE: +54 (0341) 7352035

info@detxmol.com.ar

www.detxmol.com.ar

detx mol

FV_DC-R2	25	3	95,00	16	20	1	1	20	5
FV_DC-R2	25	3	95,24	16	21	0	1	20	5
FV_DC-R2	25	3	100,00	58	16	0	9	24	1
FV_DC-R2	25	3	94,74	58	19	1	6	24	1
FV_DC-R2	25	3	100,00	58	16	0	6	21	4
FV_DC-R2	25	3	94,74	58	19	1	3	21	4
FV_DC-R2	25	3	90,91	58	22	2	1	22	3
FV_DC-R2	25	3	100,00	58	16	0	1	16	9
FV_DC-R2	25	3	90,91	58	22	2	2	23	2
FV_DC-R2	25	3	94,74	58	19	1	1	19	6
FV_DC-R2	25	3	100,00	58	16	0	10	25	0
FV_DC-PWL_YAK	21	4	100,00	58	16	0	5	20	1
FV_DC-R2	25	4	94,74	58	19	1	3	21	4
FV_DC-R2	25	4	88,00	58	25	3	1	25	0
FV_DC-R2	25	4	94,74	58	19	1	4	22	3
FV_DC-R2	25	4	100,00	58	16	0	6	21	4
FV_DC-R2	25	4	94,74	58	19	1	7	25	0
FV_DC-R2	25	4	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	4	95,00	58	20	0	1	20	5
FV_DC-R2	25	4	94,74	58	19	1	2	20	5
FV_M1-PMut_FAM	21	4	100,00	16	17	0	3	19	2
FV_DC-R2	25	5	100,00	16	17	0	1	17	8
FV_DC-R2	25	5	91,30	16	23	2	2	24	1
FV_DC-R2	25	5	100,00	58	16	0	9	24	1
FV_DC-R2	25	5	90,91	58	22	2	1	22	3
FV_DC-R2	25	6	91,67	16	24	1	2	25	0
FV_M1-PMut_FAM	21	6	100,00	58	16	0	2	17	4
FV_DC-F2	22	7	100,00	58	16	0	5	20	2
FV_DC-R2	25	7	100,00	16	17	0	8	24	1
FV_DC-R2	25	7	100,00	16	17	0	1	17	8
FV_DC-R2	25	7	100,00	58	16	0	7	22	3
FV_M1-PMut_FAM	21	7	100,00	58	16	0	5	20	1
FV_M1-PMut_FAM	21	7	100,00	58	16	0	1	16	5
FV_DC-R2	25	8	95,00	16	20	1	3	22	3
FV_DC-R2	25	8	100,00	16	17	0	8	24	1
FV_DC-R2	25	8	94,74	58	19	1	3	21	4
FV_DC-R2	25	9	100,00	58	16	0	1	16	9
FV_DC-F2	22	10	100,00	58	16	0	2	17	5
FV_DC-R2	25	10	100,00	58	16	0	8	23	2
FV_DC-R2	25	10	94,74	58	19	1	3	21	4
FV_DC-R2	25	10	100,00	58	16	0	8	23	2
FV_DC-R2	25	10	100,00	58	16	0	8	23	2
FV_DC-R2	25	10	100,00	58	16	0	6	21	4
FV_M1-PMut_FAM	21	10	100,00	58	16	0	6	21	0
FV_DC-R2	25	11	94,74	58	19	1	2	20	5
FV_DC-R2	25	11	100,00	58	16	0	4	19	6
FV_M1-PMut_FAM	21	11	100,00	16	17	0	5	21	0
FV_DC-R2	25	12	100,00	45	18	0	1	18	7
FV_DC-F2	22	13	94,74	58	19	1	2	20	2
FV_DC-F2	22	13	100,00	58	16	0	6	21	1
FV_DC-R2	25	13	100,00	16	17	0	3	19	6
FV_DC-R2	25	13	88,00	58	25	3	1	25	0
FV_DC-F2	22	14	100,00	58	16	0	1	16	6
FV_DC-R2	25	14	100,00	45	18	0	4	21	4
FV_DC-R2	25	14	100,00	16	17	0	1	17	8
FV_DC-R2	25	14	90,91	58	22	2	3	24	1
FV_DC-R2	25	14	100,00	58	16	0	8	23	2
FV_M1-PMut_FAM	21	14	95,00	58	20	0	2	21	0
FV_DC-R2	25	15	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	15	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	15	91,67	16	24	1	2	24	1

Bioq.  **Dr. DIEGO CHOUY**

Director Técnico

Piso 3, Cal **DETx MOL S.A.** 4, Campus Corporativo Cooperativo Apoderado
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina **DETx MOL S.A.**

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

FV_DC-R2	25	15	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	15	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	16	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	16	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	16	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	16	100,00	58	16	0	5	20	5
FV_DC-R2	25	16	90,91	58	22	2	3	24	1
FV_DC-R2	25	17	100,00	58	16	0	2	17	8
FV_DC-R2	25	18	100,00	58	16	0	2	17	8
FV_DC-R2	25	18	100,00	58	16	0	1	16	9
FV_M1-PMut_FAM	21	18	100,00	58	16	0	1	16	5
FV_DC-R2	25	19	100,00	58	16	0	2	17	8
FV_DC-F2	22	20	95,00	16	20	1	3	22	0
FV_DC-R2	25	20	95,00	16	20	1	1	20	5
FV_DC-R2	25	20	94,74	58	19	1	1	19	6
FV_M1-PMut_FAM	21	20	95,24	16	21	0	2	21	0
FV_DC-R2	25	21	95,00	58	20	0	6	24	1
FV_M1-PMut_FAM	21	22	100,00	58	16	0	6	21	0
FV_DC-R2	25	X	100,00	58	16	0	3	18	7
FV_DC-R2	25	X	100,00	58	16	0	6	21	4
FV_DC-R2	25	X	94,74	58	19	1	6	24	1
FV_DC-R2	25	X	94,74	58	19	1	3	21	4
FV_DC-R2	25	X	100,00	58	16	0	2	17	8
FV_M1-PMut_FAM	21	X	100,00	58	16	0	4	19	2

Se destaca en color, el match (emparejamiento) correcto de cebadores en el cromosoma donde se encuentra el gen F5.

TABLA 1B. ANÁLISIS DE OLIGONUCLEÓTIDOS - FACTOR II G20210A

Nombre del oligonucleótido	Longitud	Cromosoma	% similitud	E-value	Longitud de emparejamiento	N° de discordancia	Posición de emparejamiento		N° de discordancia extremo 3'
							inicio	inicio	
PT_G20210A_Mut	18	1	100,00	58	16	0	2	17	1
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	1	95,00	16	20	1	1	20	4
PT_G20210A-F	24	1	94,74	58	19	1	4	22	2
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	7	22	2
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	1	16	8
PT_G20210A-F	24	1	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G2021A-Rev	22	1	91,30	58	23	1	1	22	0
PT_G20210A_Mut	18	2	100,00	58	16	0	2	17	1
PT_G20210A_Mut	18	2	100,00	58	16	0	2	17	1
PT_G20210A_Mut	18	2	100,00	58	16	0	2	17	1
PT_G20210A_Mut	18	2	100,00	58	16	0	2	17	1
PT_G20210A-F	24	2	94,74	58	19	1	3	21	3
PT_G20210A-F	24	2	91,30	58	23	1	2	24	0
PT_G2021A-Rev	22	2	95,00	16	20	1	3	22	0
PT_G2021A-Rev	22	2	95,00	16	20	1	3	22	0
PT_G2021A-Rev	22	2	91,30	58	23	0	1	22	0
PT_G2021A-Rev	22	2	100,00	58	16	0	7	22	0
PT_G20210A-F	24	3	100,00	12	19	0	2	20	4
PT_G20210A-F	24	3	95,00	16	20	1	4	23	1
PT_G20210A-F	24	3	94,74	58	19	1	4	22	2
PT_G20210A-F	24	3	100,00	58	16	0	3	18	6
PT_G20210A-F	24	3	94,74	58	19	1	1	19	5
PT_G2021A-Rev	22	3	100,00	58	16	0	6	21	1

Bloq. GERMAN PEREZ
Director Técnico

Dr. DIEGO CHOUHY

Apoderado
DETx MOL S.A.

Piso 3, Ca DETx MOL S.A. 4, Campus Corporativo Cooperativo Molero
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

PT_G20210A-F	24	4	95,00	16	20	1	1	20	4
PT_G20210A-F	24	4	95,00	16	20	1	1	20	4
PT_G20210A-F	24	4	95,00	16	20	1	1	20	4
PT_G20210A-F	24	4	91,30	16	23	2	1	23	1
PT_G20210A-F	24	4	94,74	58	19	1	1	19	5
PT_G20210A-F	24	4	100,00	58	16	0	1	16	8
PT_G20210A-F	24	4	94,74	58	19	1	6	24	0
PT_G20210A-F	24	4	94,74	58	19	1	1	19	5
PT_G20210A-F	24	5	100,00	16	17	0	6	22	2
PT_G20210A-F	24	5	100,00	16	17	0	7	23	1
PT_G20210A-F	24	5	100,00	58	16	0	8	23	1
PT_G20210A-F	24	5	95,00	58	20	0	1	19	5
PT_G20210A-F	24	5	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G20210A-F	24	5	94,74	58	19	1	1	19	5
PT_G2021A-Rev	22	5	100,00	58	16	0	7	22	0
PT_G20210A_Mut	18	6	100,00	58	16	0	2	17	1
PT_G20210A-F	24	7	100,00	58	16	0	1	16	8
PT_G20210A-F	24	7	95,00	58	20	0	2	20	4
PT_G20210A-F	24	7	94,74	58	19	1	1	19	5
PT_G20210A-F	24	7	100,00	58	16	0	3	18	6
PT_G20210A-F	24	7	100,00	58	16	0	1	16	8
PT_G2021A-Rev	22	7	94,74	58	19	1	3	21	1
PT_G2021A-Rev	22	7	90,91	58	22	2	1	22	0
PT_G20210A-F	24	8	100,00	16	17	0	1	17	7
PT_G20210A-F	24	8	100,00	16	17	0	2	18	6
PT_G20210A-F	24	8	100,00	58	16	0	1	16	8
PT_G20210A-F	24	8	88,46	58	26	1	1	24	0
PT_G20210A-F	24	8	100,00	58	16	0	6	21	3
PT_G20210A_Mut	18	9	100,00	58	16	0	3	18	0
PT_G20210A-F	24	9	100,00	45	18	0	1	18	6
PT_G20210A-F	24	9	100,00	16	17	0	6	22	2
PT_G20210A-F	24	9	100,00	16	17	0	1	17	7
PT_G20210A-F	24	10	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	10	100,00	58	16	0	1	16	8
PT_G20210A_WT	17	11	100,00	16	17	0	1	17	0
PT_G20210A-F	24	11	100,00	0,021	24	0	1	24	0
PT_G20210A-F	24	11	95,00	16	20	1	4	23	1
PT_G2021A-Rev	22	11	100,00	3	22	0	1	22	0
PT_G2021A-Rev	22	11	100,00	58	16	0	7	22	0
PT_G2021A-Rev	22	11	95,00	58	20	0	3	21	1
PT_G2021A-Rev	22	11	100,00	58	16	0	1	16	6
PT_G20210A_Mut	18	11	95,40	52	18	1	1	18	0
PT_G2021A-Rev	22	11	94,74	58	19	1	4	22	0
PT_G2021A-Rev	22	12	100,00	58	16	0	1	16	6
PT_G2021A-Rev	22	12	100,00	58	16	0	1	16	6
PT_G20210A-F	24	13	100,00	58	16	0	1	16	8
PT_G20210A-F	24	14	100,00	16	17	0	1	17	7
PT_G20210A-F	24	14	91,30	16	23	2	1	23	1
PT_G20210A-F	24	14	94,74	58	19	1	1	19	5
PT_G20210A-F	24	14	94,74	58	19	1	5	23	1
PT_G2021A-Rev	22	14	100,00	58	16	0	7	22	0
PT_G20210A-F	24	15	100,00	16	17	0	1	17	7
PT_G20210A-F	24	15	100,00	58	16	0	4	19	5
PT_G20210A-F	24	15	100,00	58	16	0	3	18	6
PT_G20210A_Mut	18	16	100,00	58	16	0	1	16	2
PT_G20210A_Mut	18	17	100,00	58	16	0	1	16	2
PT_G20210A-F	24	17	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G20210A-F	24	17	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G20210A-F	24	17	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G20210A-F	24	17	90,91	58	22	2	3	24	0

Bioq. GERMAN PEREZ

Director Técnico

Dr. DIEGO CHOUHY

Apoderado
DETx MOL S.A.

Piso 3, Cabecera DETx MOL S.A., Campus Corporativo Cooperativo N° 1
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

PT_G20210A-F	24	17	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G20210A-F	24	17	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G20210A-F	24	17	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G20210A-F	24	17	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G2021A-Rev	22	17	95,00	58	20	0	4	22	0
PT_G20210A-F	24	18	100,00	58	16	0	3	18	6
PT_G2021A-Rev	22	18	94,74	58	19	1	4	22	0
PT_G2021A-Rev	22	19	94,74	58	19	1	3	21	1
PT_G20210A-F	24	21	95,00	16	20	1	1	20	4
PT_G20210A-F	24	22	95,00	16	20	1	1	20	4
PT_G20210A_Mut	18	X	100,00	58	16	0	2	17	1
PT_G20210A-F	24	X	100,00	16	17	0	3	19	5
PT_G20210A-F	24	X	90,91	58	22	2	3	24	0
PT_G20210A-F	24	X	100,00	58	16	0	3	18	6
PT_G2021A-Rev	22	X	100,00	58	16	0	1	16	6
PT_G20210A-F	24	Y	90,91	58	22	2	3	24	0

Se destaca en color, el match (emparejamiento) correcto de cebadores en el cromosoma donde se encuentra el gen F2. En letra color rojo se destaca el ejemplo descrito en el texto.

El análisis *in silico* de los oligonucleótidos y sondas mostró que los mismos se hibridan con un 100% de identidad con su target específico (excepto para las sondas que contienen el alelo mutado, donde la hibridación es con un 94,11% y 95,24% de homología para los genes F2 y F5, respectivamente), a las distancias adecuadas para permitir la correcta amplificación y detección. Este análisis también reveló una potencial hibridación de los oligonucleótidos y sondas en zonas no específicas del genoma humano, como evidencia el porcentaje de similitud cercano o del 100% de los distintos oligonucleótidos en regiones cromosómicas distintas (por ejemplo, PT_G20210A-F hibrida 17 de sus 24 nucleótidos (de la posición 1 a 17) con 100% similitud en el cromosoma 15- se muestra en negrita y rojo en la **TABLA 1B**). Sin embargo, estas hibridaciones:

- presentan desemparejamientos mayores a 1 en el extremo 3' (en el ejemplo anterior, se observa nucleótidos de discordancia en dicho extremo del oligonucleótido)
- se encuentran a distancias muy separadas como para permitir la correcta amplificación y detección
- sin la hibridación de una sonda que permita la detección entre las regiones de hibridación de los oligonucleótidos.

CONCLUSIÓN: Mediante análisis *in silico* de predicción para evaluar selectividad, podemos concluir que el **MultiTarget® THR KIT** amplificaría específicamente las regiones esperadas de los genes F2 y F5, detectaría específicamente los alelos normales y mutados de los mismos.

1.2. ANÁLISIS *IN SILICO* CON SECUENCIAS DE PATÓGENOS RELACIONADOS.

La especificidad de los oligonucleótidos del **MultiTarget® THR KIT** para el análisis de exclusividad se analizaron con la herramienta bioinformática en línea de comandos NCBI blast+ (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>), utilizando como "query" la secuencia de oligonucleótidos incluidos en el kit, y como "subject" una compilación de secuencias de microorganismos patógenos que podrían estar presentes en la muestra clínica analizada (descargadas desde NIH-NCBI) que se detallan en la **TABLA 2**. Una vez obtenidos los archivos de salida del programa, se procedió al análisis de los mismos mediante planillas de Microsoft Excel, evaluando los parámetros de porcentaje de similitud, número de discordancias (*mismatch*) y la posición de emparejamiento (hibridación) de los oligonucleótidos en el "subject".


BIOQ. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETX MOL S.A.


DR. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETX MOL S.A.

TABLA 2 - PATÓGENOS ANALIZADOS EN LOS ANÁLISIS IN SÍLICO

ORGANISMO	Número NCBI de acceso
<i>Acinetobacter baumannii</i> strain ATCC 17978	GCF_011067065.1
<i>Aspergillus fumigatus</i> strain Af293	GCF_000002655.1
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> strain 15065A	NZ_CP092017.1
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> ATCC 700819	NC_002163.1
<i>Candida albicans</i> strain SC5314	GCF_000182965.3
<i>Candida glabrata</i> (<i>Nakaseomyces glabratus</i>) strain CBS138	GCF_000002545.3
<i>Candida tropicalis</i> strain MYA-3404	GCF_000006335.3
Citomegalovirus (human betaherpesvirus 5)	GCF_000845245.1
Dengue virus genotype 1	GCF_000862125.1
Dengue virus genotype 2	GCF_000871845.1
Dengue virus genotype 3	GCF_000866625.1
Dengue virus genotype 4	GCF_000865065.1
<i>Enterobacter cloacae</i> isolate 1382	GCF_905331265.2
<i>Enterococcus faecium</i> strain SRR24	GCF_009734005.1
Epstein-Barr virus (Human herpesvirus 4 type 2)	GCF_000872045.1
<i>Escherichia coli</i> str. K-12 substr. MG1655	NC_000913.3
<i>Haemophilus influenzae</i> strain 477	GCF_000931575.1
<i>Helicobacter pylori</i> strain MT5135	GCF_017821535.1
Hepatitis B virus ICTV	GCF_000861825.2
Hepatitis C virus genotype 1	NC_004102.1
Hepatitis D virus	GCF_000856565.1
Herpes simplex virus type 1 (Human alphaherpesvirus 1) strain 17	GCF_000859985.2
Herpes simplex virus type 2 (Human alphaherpesvirus 2) strain 333	GCA_900379695.1
<i>Histoplasma capsulatum</i> strain G186AR	GCF_000150115.1
HIV CRF12_BF (Argentina, 1999)	AF385936.1
HIV CRF17_BF (Argentina, 2002)	EU581826.1
HIV CRF89_BF (Spain, 2020)	MW802824.1
HIV genotipo B (China, 2019)	MW728275.1
HIV genotipo B (USA, 2019)	OM207698.1
HIV genotipo F1 (Argentina, 2005)	DQ189088.1
HIV genotipo F1 (Brasil, 2012)	MG365764.1
HIV genotipo F1 (Brasil, 2016)	MK041565.1
Human betaherpesvirus 6 strain HP33A7	KY315532.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> HS11286	GCF_000240185.1
<i>Leishmania major</i> strain Friedlin	GCF_000002725.2
<i>Mycoplasmoides pneumoniae</i> strain NCTC10119	GCF_900660465.1
<i>Neisseria meningitidis</i> strain 11-7	GCF_008330805.1
<i>Plasmodium falciparum</i> strain 3D7	GCF_000002765.6
<i>Proteus mirabilis</i> strain HI4320	GCF_000069965.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain PAO1	GCF_000006765.1
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> NCTC 8325	GCF_000013425.1
<i>Staphylococcus epidermidis</i> strain ATCC 14990	GCF_006094375.1

BIOG. GERMAN PEREZ

Director Técnico
DET x MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY

Apoderado
DET x MOL S.A.

<i>Streptococcus pneumoniae</i> strain Hu17	GCF_002076835.1
<i>Streptococcus pyogenes</i> strain NCTC12064	GCF_900475035.1
<i>Toxoplasma gondii</i> strain ME49	GCF_000006565.2
<i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener	GCF_000209065.1
Varicela-zoster virus (human alphaherpesvirus 3)	GCF_000858285.1

El análisis de los oligonucleótidos mostró una potencial hibridación individual de los mismos en zonas no específicas de los genomas de los 47 microorganismos patógenos analizados. Sin embargo, estas hibridaciones presentaban:

- más de una discordancia nucleotídica en el extremo 3' de los m97ismos,
- distancias muy separadas entre sí como para permitir la correcta amplificación y detección
- no había hibridación de alguna de las sondas de modo que permita la detección entre las regiones de hibridación de los cebadores.

CONCLUSIÓN: Mediante análisis *in silico* de predicción para evaluar selectividad, podemos concluir que el **MultiTarget® THR KIT** no amplificarían ni detectarían inespecíficamente los genomas de los posibles microorganismos presentes en la muestra clínica.

2. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA (Estudio de mutaciones potencialmente interferentes).

Para determinar el efecto de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) conocidos cercanos a las mutaciones del Factor V Leiden (c.1601G>A - rs6025) y Factor II (c.*97G>A - rs1799963) se utilizaron ADN plasmídicos que contienen distintos SNP conocidos siendo variantes estrechamente relacionadas:

VARIANTE	NOMBRE	ALELO
NM_000130.4: c.1607T>A (p.Ile536Lys) - rs1463895656	pFV-ESP1	A
NM_000130.4: c.1600C>T (p.Arg534Ter) - rs770011773	pFV-ESP2	T
NM_000130.4: c.1599G>A (p.Arg533=) - rs946421075	pFV-ESP3	A
NM_000506.5: c.*96C>T - rs72550707	pFII-ESP1	T
NM_000506.4: c.*100C>T - rs112016113	pFII-ESP2	T
NC_000011.10: g.46739513A>G - rs1389826595	pFII-ESP3	G

Estos plásmidos eran de tipo salvaje (*wild type* / alelo normal) en las posiciones c.1601G>A y c.*97G>A para Factor V Leiden y Factor II, respectivamente.

Cada ADN plasmídico (ESP1, ESP2 y ESP3) se analizó solo y en combinación con ADN plasmídico de tipo salvaje para las variantes en estudio. Los ADN plasmídicos se utilizaron a una concentración de 1×10^5 copias/reacción.

En paralelo se comparó con los ADN plasmídicos conteniendo la variante salvaje (alelo normal) y mutada (alelo mutado) de cada variante en estudio:

VARIANTE	NOMBRE	ALELO
NM_000130.4: c.1601G>A - rs6025	pFV-WT	G
	pFV-MUT	A
NM_000506.4: c.*97G>A - rs1799963	pFII-WT	G
	pFII-MUT	A

Los resultados del estudio de mutaciones cercanas potencialmente interferentes para la detección de alelos del Factor V Leiden y Factor II G20210A se detallan en la **TABLA 3** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).


Blaq. GERMAN DEREZ
Director Técnico


Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado

TABLA 3A. ESTUDIO DE VARIANTES INTERFERENTES PARA FACTOR V LEIDEN

c.1601G>A					MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV				
alelo G	alelo A	alelo G			CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN
pFV-WT	pFV-MUT	pFV-ESP1 c.1607T>A	pFV-ESP2 c.1600C>T	pFV-ESP3 c.1599G>A	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	
---	---	SI	---	---	---	---	31,38	33.900	NOR
---	---	SI	---	---	---	---	31,03	36.696	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	28,63	77.802	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	28,51	73.510	NOR
---	SI	SI	---	---	30,25	71.188	29,47	31.428	HET
---	SI	SI	---	---	29,91	76.324	28,92	37.706	HET
---	---	---	SI	---	---	---	30,07	25.757	NOR
---	---	---	SI	---	---	---	29,79	25.920	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	29,23	68.759	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	29,22	63.359	NOR
---	SI	---	SI	---	31,58	54.711	33,12	10.792	MUT
---	SI	---	SI	---	31,51	51.837	32,63	10.133	MUT
---	---	---	---	SI	---	---	---	---	INVÁLIDA
---	---	---	---	SI	---	---	---	---	INVÁLIDA
SI	---	---	---	---	---	---	28,21	80.544	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	27,97	77.965	NOR

NOR: homocigota normal. HET: heterocigota. MUT: homocigota mutado. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.

TABLA 3B. ESTUDIO DE VARIANTES INTERFERENTES PARA FACTOR II G20210A

c.*97G>A					MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII				
alelo G	alelo A	alelo G			CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN
pFII-WT	pFII-MUT	pFII-ESP1 c.*96C>T	pFII-ESP2 c.*100C>T	pFII-ESP3 g.46739513A>G	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	
---	---	SI	---	---	---	---	---	---	INVÁLIDA
---	---	SI	---	---	---	---	---	---	INVÁLIDA
SI	---	---	---	---	---	---	29,59	40.590	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	29,88	35.207	NOR
---	---	---	SI	---	---	---	---	---	INVÁLIDA
---	---	---	SI	---	---	---	---	---	INVÁLIDA
SI	---	---	---	---	---	---	30,37	33.322	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	30,42	32.411	NOR
---	---	---	---	SI	---	---	30,08	32.243	NOR
---	---	---	---	SI	---	---	28,76	38.905	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	28,13	46.050	NOR
SI	---	---	---	---	---	---	27,33	56.528	NOR
---	SI	---	---	SI	30,51	48.338	31,11	21.169	HET
---	SI	---	---	SI	31,03	47.366	31,53	22.666	HET
---	---	SI	---	---	---	---	---	---	INVÁLIDA
---	---	SI	---	---	---	---	---	---	INVÁLIDA

NOR: homocigota normal. HET: heterocigota. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.

CONCLUSIÓN: Ninguno de los ADN plásmidos (ESP1, ESP2 y ESP3) causó resultados falsos positivos para las variantes del Factor V Leiden o del Factor II G20210A, ni interfirió con la detección de las secuencias de tipo salvaje.

La presencia de las variantes c.*96C>T (pFII-ESP1) y c.*100C>T (pFII-ESP2) para Factor II, y c.1599G>A (pFV-ESP3) para Factor V interfieren en la amplificación, por lo que si estos SNPs está presente en ambos alelos, el resultado de la prueba sería INVÁLIDO.

Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DET x MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DET x MOL S.A.

3. INESPECIFICIDAD CRUZADA.

Para evaluar la ausencia de amplificación alélica de una variante en presencia de los oligonucleótidos de la otra variante, se utilizaron los ADN plasmídicos controles (pFV-WT / pFV-MUT en sistema **MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII** y pFII-WT / pFII-MUT en sistema **MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV**) en concentración de 1×10^6 copias/reacción.

Los resultados se muestran a continuación en la **TABLA 4** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

TABLA 4A. ESTUDIO DE INESPECIFICIDAD CRUZADA PARA FACTOR V LEIDEN						
pFV-WT (alelo G)	pFV-MUT (alelo A)	MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII				INTERPRETACIÓN
		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		
		Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	
SI	---	37,28	12.807	---	---	NO DET
SI	---	37,75	22.051	---	---	NO DET
---	SI	---	---	---	---	NO DET
---	SI	---	---	---	---	NO DET

Los datos de ΔRn y Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación.

Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.

TABLA 4B. ESTUDIO DE INESPECIFICIDAD CRUZADA PARA FACTOR II G20210A						
pFII-WT (alelo G)	pFII-MUT (alelo A)	MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV				INTERPRETACIÓN
		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		
		Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	
SI	---	---	---	---	---	NO DET
SI	---	---	---	---	---	NO DET
---	SI	---	---	---	---	NO DET
---	SI	---	---	---	---	NO DET

Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.

4. RANGO DINÁMICO.

Se procedió a establecer el intervalo de concentraciones de ADN genómico (ADNg) purificado a emplear como molde (límites de concentración inferior y superior) que garantice valores de Ct reproducibles. Para ello, a partir de alícuotas de sangre entera anticoagulada con EDTA de muestras homocigota normal (NOR) y heterocigota (HET) se procedió a la purificación del ADNg con un método comercial (NucleoSpin Blood, Mini kit. Código 740951.50. *Macherey-Nagel. Alemania*) según instrucciones del fabricante. La concentración de ADNg se midió por método espectrofotométrico. La muestra homocigota mutado (MUT) fue simulada utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT). Se ensayaron distintos números de réplicas de cada una de las concentraciones con el **MultiTarget® THR KIT**:

TIPO DE MUESTRA	CONCENTRACIONES	Nº RÉPLICAS
NOR	0,1 - 1,0 - 100 ng/μl	8
HET	0,001 - 0,1 - 1,0 - 10 - 50 - 75 - 100 ng/μl	20
MUT	200 - 2.000 - 200.000 copias/reacción (simula 0,1 - 1,0 - 100 ng/μl)	8

Bloq. GERMAN PEREZ
Director Médico
DETx MOL S.A.

Dr. DIEGO CHEQUY
Apoderado

Los resultados abreviados (número de réplicas detectadas/número total de réplicas y porcentaje de detección) se muestran en la **TABLA 5**. Los datos experimentales se muestran en la **TABLA 6** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

TABLA 5. ESTIMACIÓN DEL RANGO DINÁMICO - RESUMEN (número de réplicas detectas / número de réplicas totales - porcentaje de detección)					
CIGOCIDAD	CONCENTRACIÓN	CANTIDAD POR REACCIÓN	MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV	MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII	TIPO DE LÍMITE
NOR	0,1 ng/μl	0,5 ng	8/8 (100%)	8/8 (100%)	Inferior
	1 ng/μl	5 ng	8/8 (100%)	8/8 (100%)	Inferior
	100 ng/μl	500 ng	8/8 (100%)	8/8 (100%)	Superior
HET	0,001 ng/μl	0,005 ng	0/20 (0%)	0/20 (0%)	Inferior
	0,01 ng/μl	0,05 ng	1/20 (5%)	0/20 (0%)	Inferior
	0,1 ng/μl	0,5 ng	14/20 (70%)	13/20 (65%)	Inferior
	1 ng/μl	5 ng	20/20 (100%)	20/20 (100%)	Inferior
	10 ng/μl	50 ng	20/20 (100%)	20/20 (100%)	Superior
	50 ng/μl	250 ng	20/20 (100%)	20/20 (100%)	Superior
	75 ng/μl	375 ng	20/20 (100%)	20/20 (100%)	Superior
100 ng/μl	500 ng	20/20 (100%)	20/20 (100%)	Superior	
MUT	200 cop/μl	1000 cop	8/8 (100%)	8/8 (100%)	Inferior
	2.000 cop/μl	10.000 cop	8/8 (100%)	8/8 (100%)	Inferior
	200.000 cop/μl	1x10 ⁶ cop	8/8 (100%)	8/8 (100%)	Superior

Considerando como criterio la concentración en donde se detectan todas las réplicas (100% de detección), se estable como límite inferior una concentración de ADNg de 1,0 ng/μl (5 ng/reacción) y como límite superior una concentración de ADNg de 100 ng/μl (500 ng/reacción).

CONCLUSIÓN: Se recomienda como **rango óptimo** las concentraciones de ADNg entre 1,0 a 50 ng/μl (5 a 250 ng/reacción). La Figura 1 muestra las curvas de amplificación para distintas concentraciones de ADNg del rango óptimo utilizando el **MultiTarget® THR KIT**.

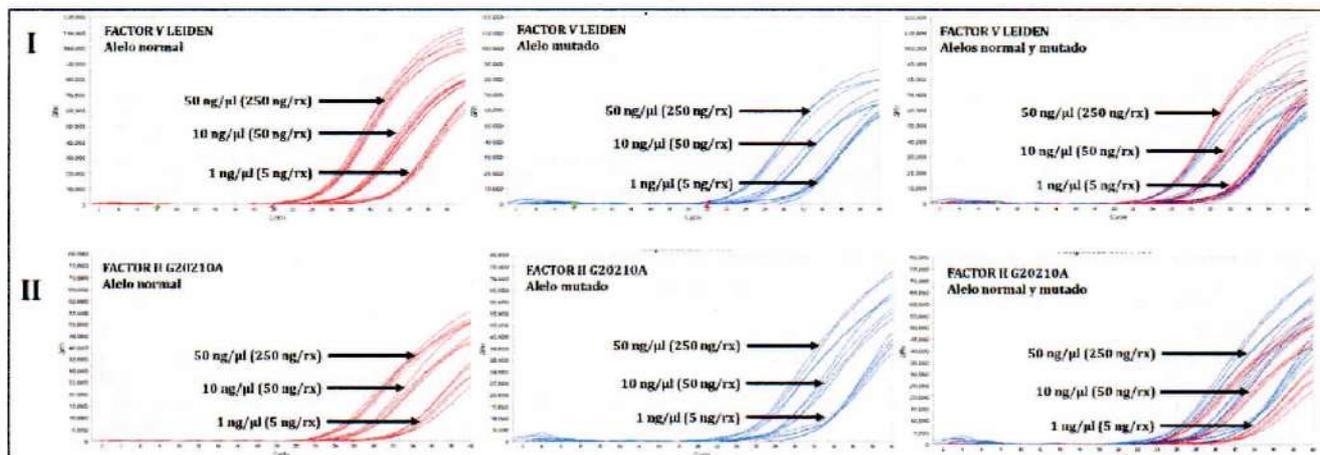


Figura 1. Gráficos de amplificación para distintas concentraciones de ADN genómico utilizando el MultiTarget® THR KIT. Se muestra las curvas obtenidas en la detección de Factor V Leiden(I) y Factor II G20210A (II) para muestras heterocigotas (alelo normal, alelo mutado y ambos alelos). Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.


Bto. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.


Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

TABLA 6B. ESTIMACIÓN DEL RANGO DINÁMICO PARA FACTOR V LEIDEN

CONCENTRACIÓN	MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV				INTERPRETACIÓN
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	
HOMOCIGOTA NORMAL					
0,1 ng/ul	---	---	34,32	66.324	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,79	64.993	NOR
0,1 ng/ul	---	---	34,27	61.143	NOR
0,1 ng/ul	37,32	19,203	32,88	76.970	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,65	71.769	NOR
0,1 ng/ul	---	---	34,30	62.406	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,21	91.330	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,20	83.542	NOR
1 ng/ul	---	---	30,60	115.784	NOR
1 ng/ul	---	---	29,90	118.149	NOR
1 ng/ul	---	---	30,34	116.686	NOR
1 ng/ul	35,44	25,830	28,73	150.438	NOR
1 ng/ul	37,36	19,403	29,58	136.900	NOR
1 ng/ul	---	---	30,04	113.707	NOR
1 ng/ul	36,87	21,103	29,33	140.569	NOR
1 ng/ul	38,71	16,332	29,68	124.231	NOR
100 ng/ul	36,29	18,524	21,14	146.030	NOR
100 ng/ul	33,62	16,506	21,55	135.341	NOR
100 ng/ul	32,45	22,967	20,62	150.583	NOR
100 ng/ul	31,31	25,985	20,84	162.259	NOR
100 ng/ul	---	---	20,47	140.611	NOR
100 ng/ul	30,03	26,528	20,57	158.916	NOR
100 ng/ul	---	---	21,53	138.678	NOR
100 ng/ul	---	---	20,82	154.657	NOR
HET					
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	34,13	9.073	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	37,94	10.653	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	37,77	7.066	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	38,20	7.615	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	37,05	1763	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	38,74	1563	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	39,98	15,062	36,76	16364	NO DET
0,01 ng/ul	39,44	16,698	37,56	9325	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	37,38	11.143	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	36,81	13732	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	38,98	6.626	NO DET

Bioq. GERMAN PEREZ
 Director Técnico

Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado



0,01 ng/ul	---	---	38,64	7,904	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	38,58	8,772	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	38,09	9,806	NO DET
0,01 ng/ul	39,76	16,858	36,50	17,877	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	37,50	13,318	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	38,89	7,069	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	37,40	12,429	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	39,72	15,626	76,46	8,009	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	38,99	7,431	NO DET
0,01 ng/ul	36,67	31.293	36,07	22.902	HET
0,01 ng/ul	38,67	20,843	35,04	10,228	NO DET
0,01 ng/ul	38,97	20,726	37,49	11,873	NO DET
0,01 ng/ul	38,33	23,321	37,46	13,853	NO DET
0,1 ng/ul	36,40	21,290	38,09	20,413	NO DET
0,1 ng/ul	38,67	20,570	35,67	21,180	NO DET
0,1 ng/ul	37,56	26,629	35,13	20,954	NO DET
0,1 ng/ul	36,58	36.869	34,10	38.899	HET
0,1 ng/ul	35,59	47.811	33,90	40.808	HET
0,1 ng/ul	36,99	36.282	34,64	38.867	HET
0,1 ng/ul	37,31	27.308	33,87	43.338	HET
0,1 ng/ul	37,18	33.497	35,51	28.285	HET
0,1 ng/ul	36,92	27.163	34,18	36.872	HET
0,1 ng/ul	37,05	30.063	34,59	34.079	HET
0,1 ng/ul	39,12	18,974	35,33	31,842	NO DET
0,1 ng/ul	36,68	34.671	34,69	33.694	HET
0,1 ng/ul	37,63	26,150	35,24	27,360	NO DET
0,1 ng/ul	37,68	29.397	36,27	22.647	HET
0,1 ng/ul	38,28	22,153	35,21	31,146	NO DET
0,1 ng/ul	37,66	30.646	36,16	21.751	HET
0,1 ng/ul	36,24	41.262	34,75	31.648	HET
0,1 ng/ul	37,64	33.627	35,97	27.515	HET
0,1 ng/ul	36,59	34.584	34,40	38.936	HET
0,1 ng/ul	37,57	27.678	34,61	40.667	HET
1 ng/ul	31,63	87.090	29,50	101.767	HET
1 ng/ul	32,83	65.288	30,43	74.143	HET
1 ng/ul	32,52	73.747	29,93	86.540	HET
1 ng/ul	33,48	60.432	31,43	65.656	HET
1 ng/ul	33,43	52.380	30,88	61.651	HET
1 ng/ul	34,18	48.022	31,63	59.403	HET
1 ng/ul	33,77	53.926	31,12	67.827	HET
1 ng/ul	33,36	57.620	30,37	71.538	HET
1 ng/ul	33,23	56.287	30,52	68.894	HET
1 ng/ul	33,77	59.728	31,33	66.238	HET
1 ng/ul	32,45	72.468	30,29	79.435	HET
1 ng/ul	33,41	57.231	30,91	71.990	HET
1 ng/ul	33,28	54.145	31,29	61.176	HET
1 ng/ul	34,52	44.620	31,72	64.248	HET
1 ng/ul	33,58	55.629	31,05	73.477	HET
1 ng/ul	34,34	51.325	31,75	57.580	HET
1 ng/ul	33,64	54.197	31,37	59.015	HET
1 ng/ul	34,01	54.114	31,73	62.888	HET
1 ng/ul	32,82	68.503	30,72	78.713	HET
1 ng/ul	33,34	63.143	31,11	72.750	HET
10 ng/ul	30,72	55.145	27,87	79.703	HET
10 ng/ul	30,69	58.582	27,52	87.489	HET

Bloc GERMAN PEREZ

Director Técnico
DET x MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY

Apoderado
DET x MOL S.A.

Piso 3, Calle 4, Campus Corporativo Cooperativo N°10
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

10 ng/ul	30,46	57.955	27,65	81.673	HET
10 ng/ul	30,47	57.907	27,46	79.846	HET
10 ng/ul	29,86	67.440	27,34	80.442	HET
10 ng/ul	29,98	64.087	27,16	84.786	HET
10 ng/ul	28,41	88.855	26,01	100.121	HET
10 ng/ul	29,07	74.227	26,76	93.017	HET
10 ng/ul	30,47	55.345	27,58	77.336	HET
10 ng/ul	30,55	55.462	27,67	77.156	HET
10 ng/ul	30,33	58.098	27,60	79.041	HET
10 ng/ul	29,72	64.514	27,09	79.691	HET
10 ng/ul	29,81	64.063	27,05	89.614	HET
10 ng/ul	29,60	72.669	27,14	97.064	HET
10 ng/ul	30,66	57.809	27,79	76.160	HET
10 ng/ul	28,96	87.893	26,71	103.533	HET
10 ng/ul	28,22	100.578	26,16	111.367	HET
10 ng/ul	29,05	81.893	26,73	92.910	HET
10 ng/ul	28,13	100.726	26,53	106.372	HET
10 ng/ul	29,11	75.258	26,92	91.556	HET
50 ng/ul	27,52	66.361	24,70	89.460	HET
50 ng/ul	27,68	60.924	24,86	88.158	HET
50 ng/ul	26,96	80.184	24,31	106.933	HET
50 ng/ul	27,42	68.306	24,62	100.812	HET
50 ng/ul	27,58	64.142	24,57	96.310	HET
50 ng/ul	27,66	68.807	24,79	98.213	HET
50 ng/ul	28,02	58.235	24,84	88.354	HET
50 ng/ul	26,72	86.849	24,08	111.262	HET
50 ng/ul	26,13	99.650	23,88	113.737	HET
50 ng/ul	25,94	92.292	23,72	103.399	HET
50 ng/ul	25,63	107.880	23,22	122.747	HET
50 ng/ul	26,55	80.217	24,18	99.013	HET
50 ng/ul	29,70	45.153	25,80	79.822	HET
50 ng/ul	29,42	45.485	25,61	79.050	HET
50 ng/ul	28,17	53.443	25,33	72.410	HET
50 ng/ul	27,14	73.283	24,65	98.670	HET
50 ng/ul	26,16	79.251	23,99	91.795	HET
50 ng/ul	27,32	69.257	24,69	92.889	HET
50 ng/ul	27,70	57.568	25,02	77.199	HET
50 ng/ul	28,13	58.293	25,02	86.733	HET
75 ng/ul	29,27	44.516	25,14	85.393	HET
75 ng/ul	28,42	48.432	24,64	88.545	HET
75 ng/ul	27,55	59.487	24,41	94.423	HET
75 ng/ul	27,22	52.602	24,20	76.979	HET
75 ng/ul	25,96	71.942	23,39	94.245	HET
75 ng/ul	26,93	61.220	24,09	84.962	HET
75 ng/ul	26,31	78.018	23,71	99.320	HET
75 ng/ul	26,72	67.470	23,78	95.620	HET
75 ng/ul	27,87	55.203	24,24	93.467	HET
75 ng/ul	28,27	49.188	24,75	87.223	HET
75 ng/ul	26,65	70.737	23,96	104.647	HET
75 ng/ul	26,99	65.086	23,95	96.044	HET
75 ng/ul	26,97	64.330	23,84	109.424	HET
75 ng/ul	28,06	50.798	24,75	88.785	HET
75 ng/ul	26,33	77.062	23,77	106.932	HET
75 ng/ul	25,97	81.376	23,84	103.081	HET
75 ng/ul	25,43	96.635	23,29	111.965	HET
75 ng/ul	25,41	100.136	23,30	112.411	HET
75 ng/ul	25,51	88.212	23,69	95.660	HET

Bloq. CERMÓN PEREZ

Dr. DIEGO CHOUHY

Piso 3, Camp. Corporativo Coopers & Lybrand, Ruta provincial 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



75 ng/ul	24,34	119.329	22,85	116.866	HET
100 ng/ul	25,99	81.069	23,19	114.471	HET
100 ng/ul	25,96	76.789	23,03	105.733	HET
100 ng/ul	26,61	63.336	23,84	91.613	HET
100 ng/ul	26,02	76.330	23,24	109.874	HET
100 ng/ul	28,69	41.738	24,37	82.927	HET
100 ng/ul	28,58	43.920	24,41	88.482	HET
100 ng/ul	27,68	52.573	24,06	95.463	HET
100 ng/ul	27,73	45.190	24,28	82.419	HET
100 ng/ul	26,92	55.747	23,87	85.033	HET
100 ng/ul	27,43	48.434	23,85	84.245	HET
100 ng/ul	26,27	67.211	23,56	86.889	HET
100 ng/ul	25,09	69.146	22,54	94.395	HET
100 ng/ul	28,89	44.758	25,05	84.226	HET
100 ng/ul	28,60	41.816	24,81	77.891	HET
100 ng/ul	28,20	45.039	24,43	77.505	HET
100 ng/ul	26,46	67.609	23,85	93.402	HET
100 ng/ul	26,26	69.092	23,74	93.853	HET
100 ng/ul	26,26	66.299	23,91	88.993	HET
100 ng/ul	26,98	52.576	24,18	69.924	HET
100 ng/ul	26,14	67.377	23,65	90.462	HET
HOMOCIGOTA MUTADO					
200 cop/ul	35,39	70.487	---	---	MUT
200 cop/ul	34,73	65.554	---	---	MUT
200 cop/ul	36,41	55.512	---	---	MUT
200 cop/ul	34,75	90.165	---	---	MUT
200 cop/ul	34,70	76.412	---	---	MUT
200 cop/ul	35,25	79.243	---	---	MUT
200 cop/ul	34,61	85.839	---	---	MUT
200 cop/ul	35,55	74.158	---	---	MUT
2000 cop/ul	32,75	103.699	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,21	118.908	---	---	MUT
2000 cop/ul	32,56	116.399	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,65	127.542	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,10	162.375	---	---	MUT
2000 cop/ul	32,28	108.912	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,72	122.355	---	---	MUT
2000 cop/ul	32,31	126.654	---	---	MUT
200000 cop/ul	25,20	146.309	---	---	MUT
200000 cop/ul	25,07	147.006	---	---	MUT
200000 cop/ul	24,93	162.349	---	---	MUT
200000 cop/ul	24,91	146.733	---	---	MUT
200000 cop/ul	24,70	164.707	---	---	MUT
200000 cop/ul	24,87	158.701	---	---	MUT
200000 cop/ul	24,31	193.329	---	---	MUT
200000 cop/ul	24,90	175.412	---	---	MUT
TH1 - CTRL POS	30,37	62.773	30,83	40.552	HET
TH1 - CTRL POS	29,48	75.398	27,51	83.680	HET
CR	---	---	---	---	NO DET
CR	---	---	---	---	NO DET

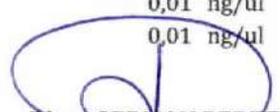
Los datos de ΔRn y Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación.
Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.


BIOG. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.


Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETx MOL S.A.

TABLA 6A. ESTIMACIÓN DEL RANGO DINÁMICO PARA FACTOR II G20210A

CONCENTRACIÓN	MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII				INTERPRETACIÓN
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	
HOMOCIGOTA NORMAL					
0,1 ng/ul	37,49	12,782	34,12	39.240	NOR
0,1 ng/ul	---	---	34,48	34.724	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,80	45.024	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,85	45.185	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,94	43.621	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,75	48.415	NOR
0,1 ng/ul	---	---	34,11	41.678	NOR
0,1 ng/ul	---	---	33,98	47.855	NOR
1 ng/ul	---	---	30,63	59.217	NOR
1 ng/ul	---	---	30,73	52.412	NOR
1 ng/ul	---	---	30,12	68.643	NOR
1 ng/ul	---	---	29,62	68.097	NOR
1 ng/ul	---	---	29,94	70.039	NOR
1 ng/ul	---	---	29,34	74.198	NOR
1 ng/ul	---	---	29,61	66.951	NOR
1 ng/ul	---	---	29,35	85.212	NOR
100 ng/ul	---	---	23,87	59.726	NOR
100 ng/ul	---	---	24,71	51.821	NOR
100 ng/ul	38,85	11,035	24,01	65.204	NOR
100 ng/ul	---	---	24,02	63.354	NOR
100 ng/ul	35,36	13,846	23,62	72.641	NOR
100 ng/ul	---	---	23,47	68.960	NOR
100 ng/ul	---	---	23,89	63.395	NOR
100 ng/ul	---	---	22,43	84.821	NOR
HETEROCIGOTA					
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,001 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET


Bto. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.


Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.



0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,01 ng/ul	---	---	---	---	NO DET
0,1 ng/ul	17,08	14,832	39,93	5,073	NO DET
0,1 ng/ul	39,43	10,705	30,42	6,284	NO DET
0,1 ng/ul	---	---	28,34	8,489	NO DET
0,1 ng/ul	---	---	39,09	7,247	NO DET
0,1 ng/ul	37,78	17.030	37,46	11.687	HET
0,1 ng/ul	39,41	12.388	37,90	11.230	HET
0,1 ng/ul	35,95	25.808	37,61	12.961	HET
0,1 ng/ul	36,82	29.436	37,64	13.465	HET
0,1 ng/ul	37,32	12,845	38,77	7,820	NO DET
0,1 ng/ul	38,62	21,197	38,86	7,365	NO DET
0,1 ng/ul	38,59	11,768	38,75	7,511	NO DET
0,1 ng/ul	35,40	25.959	37,79	11.360	HET
0,1 ng/ul	37,68	19.499	37,64	11.765	HET
0,1 ng/ul	38,16	17.882	37,52	11.511	HET
0,1 ng/ul	35,66	24.090	37,53	12.867	HET
0,1 ng/ul	35,37	45.319	35,79	22.575	HET
0,1 ng/ul	35,38	28.129	36,78	16.182	HET
0,1 ng/ul	34,93	31.237	36,17	21.088	HET
0,1 ng/ul	35,16	29.551	37,88	11.370	HET
0,1 ng/ul	36,98	29.954	36,27	21.119	HET
1 ng/ul	31,58	55.733	33,10	35.867	HET
1 ng/ul	33,63	46.151	33,43	32.489	HET
1 ng/ul	32,48	59.459	33,51	33.948	HET
1 ng/ul	34,03	41.524	33,37	33.831	HET
1 ng/ul	34,61	30.233	34,88	21.971	HET
1 ng/ul	34,89	31.210	34,17	24.402	HET
1 ng/ul	35,62	28.019	34,77	22.551	HET
1 ng/ul	32,93	51.234	33,33	31.939	HET
1 ng/ul	32,71	48.148	32,72	33.110	HET
1 ng/ul	33,42	47.257	33,71	30.450	HET
1 ng/ul	34,60	35.257	34,18	24.779	HET
1 ng/ul	33,45	41.449	33,63	30.559	HET
1 ng/ul	33,21	38.215	34,14	23.375	HET
1 ng/ul	34,38	33.973	33,80	27.885	HET
1 ng/ul	33,70	41.295	33,93	27.365	HET
1 ng/ul	33,65	43.738	33,07	32.051	HET
1 ng/ul	33,72	41.939	33,57	28.181	HET
1 ng/ul	34,77	40.918	33,38	31.500	HET
1 ng/ul	31,13	72.695	32,01	42.644	HET
1 ng/ul	33,86	47.180	33,00	33.947	HET
10 ng/ul	29,11	54.078	29,05	41.423	HET
10 ng/ul	30,66	45.305	30,12	38.062	HET

Bloq. GERMAN PEREZ
 Director Técnico

Dr. DIEGO CHOUHY

10 ng/ul	30,64	45.628	29,91	37.524	HET
10 ng/ul	28,21	77.968	28,24	52.182	HET
10 ng/ul	28,94	69.807	28,50	47.878	HET
10 ng/ul	28,90	68.424	28,67	48.304	HET
10 ng/ul	28,42	63.889	27,57	44.617	HET
10 ng/ul	28,70	65.955	28,77	45.806	HET
10 ng/ul	30,02	50.633	29,70	38.843	HET
10 ng/ul	31,05	44.032	30,31	36.472	HET
10 ng/ul	31,21	44.385	30,18	37.914	HET
10 ng/ul	29,08	70.419	29,01	49.715	HET
10 ng/ul	30,86	45.231	30,27	37.034	HET
10 ng/ul	30,11	55.599	29,31	44.899	HET
10 ng/ul	30,27	52.930	29,52	42.824	HET
10 ng/ul	29,58	57.443	28,90	41.793	HET
10 ng/ul	29,06	67.498	28,77	46.251	HET
10 ng/ul	29,82	61.586	28,74	46.925	HET
10 ng/ul	28,01	84.662	28,17	56.547	HET
10 ng/ul	29,51	64.153	28,55	50.769	HET
<hr/>					
50 ng/ul	26,25	73.893	26,07	50.426	HET
50 ng/ul	27,45	65.035	26,65	51.649	HET
50 ng/ul	28,08	51.290	27,04	41.091	HET
50 ng/ul	27,20	61.405	26,60	48.413	HET
50 ng/ul	27,56	58.747	26,75	48.847	HET
50 ng/ul	28,33	56.553	27,67	46.920	HET
50 ng/ul	29,14	47.584	27,97	42.150	HET
50 ng/ul	26,50	79.286	26,35	57.199	HET
50 ng/ul	25,21	103.622	25,25	66.572	HET
50 ng/ul	26,31	80.931	25,78	57.067	HET
50 ng/ul	25,23	105.591	25,21	67.792	HET
50 ng/ul	25,92	84.613	25,48	58.079	HET
50 ng/ul	28,54	49.133	27,99	42.128	HET
50 ng/ul	29,09	45.880	27,60	42.460	HET
50 ng/ul	29,09	47.061	27,80	41.850	HET
50 ng/ul	28,45	50.644	26,80	43.740	HET
50 ng/ul	26,79	71.161	26,03	50.826	HET
50 ng/ul	27,70	62.140	26,50	51.948	HET
50 ng/ul	26,96	72.937	26,41	55.592	HET
50 ng/ul	27,38	63.047	26,71	50.730	HET
<hr/>					
75 ng/ul	27,48	51.532	26,68	44.910	HET
75 ng/ul	27,89	52.764	27,65	45.058	HET
75 ng/ul	29,69	38.923	27,86	41.406	HET
75 ng/ul	26,73	68.476	25,89	53.041	HET
75 ng/ul	25,87	85.151	25,32	64.033	HET
75 ng/ul	25,40	79.662	24,90	55.516	HET
75 ng/ul	23,03	141.678	23,07	78.319	HET
75 ng/ul	23,90	114.031	23,84	65.425	HET
75 ng/ul	28,85	44.157	27,54	41.128	HET
75 ng/ul	30,08	35.342	27,94	38.346	HET
75 ng/ul	26,87	61.459	26,90	48.278	HET
75 ng/ul	26,50	63.254	25,75	48.834	HET
75 ng/ul	28,71	48.605	27,67	43.338	HET
75 ng/ul	28,70	47.749	27,50	43.219	HET
75 ng/ul	27,69	56.769	26,38	49.202	HET
75 ng/ul	27,39	54.068	26,48	43.404	HET
75 ng/ul	26,58	68.537	25,89	49.613	HET
75 ng/ul	26,55	67.674	25,43	54.147	HET
75 ng/ul	25,21	91.078	24,94	61.138	HET

Bloc. GERMAN PEREZ

Director General

Dr. DIEGO CHOUHY

Apoderado
DETxMOL S.A.

Piso 3, CDETxMOL S.A. - Av. 4, Campus Corporativo Cooperativo
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

75 ng/ul	26,20	75.348	25,47	58.680	HET
100 ng/ul	26,15	67247	25,95	51109	HET
100 ng/ul	25,33	74932	25,73	52538	HET
100 ng/ul	25,86	68666	25,43	47846	HET
100 ng/ul	26,32	63894	25,96	49852	HET
100 ng/ul	28,76	40758	27,06	40276	HET
100 ng/ul	28,24	45168	27,43	41743	HET
100 ng/ul	29,82	33575	27,23	39695	HET
100 ng/ul	27,59	52566	26,41	45939	HET
100 ng/ul	26,02	68296	25,87	51511	HET
100 ng/ul	26,21	61066	25,62	48776	HET
100 ng/ul	24,27	74313	25,87	49537	HET
100 ng/ul	25,62	65427	24,65	52023	HET
100 ng/ul	29,39	41.486	27,43	41.243	HET
100 ng/ul	29,06	42.044	27,43	40.361	HET
100 ng/ul	28,28	48.371	26,87	44.083	HET
100 ng/ul	27,79	47.283	26,23	41.509	HET
100 ng/ul	26,00	72.505	25,26	53.876	HET
100 ng/ul	26,33	64.584	25,06	50.538	HET
100 ng/ul	24,81	90.429	24,50	60.085	HET
100 ng/ul	25,69	74.775	24,89	56.656	HET
HOMOCIGOTA MUTADO (pFV-MUT)					
200 cop/ul	34,21	49.551	---	---	MUT
200 cop/ul	35,05	49.204	---	---	MUT
200 cop/ul	34,84	65.086	---	---	MUT
200 cop/ul	31,76	109.325	---	---	MUT
200 cop/ul	33,14	83.316	---	---	MUT
200 cop/ul	34,47	69.291	---	---	MUT
200 cop/ul	34,57	74.193	---	---	MUT
200 cop/ul	34,02	75.028	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,37	91.573	---	---	MUT
2000 cop/ul	32,18	78.562	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,58	98.701	---	---	MUT
2000 cop/ul	30,58	109.449	---	---	MUT
2000 cop/ul	30,70	136.745	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,25	103.389	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,00	127.218	---	---	MUT
2000 cop/ul	31,07	109.783	---	---	MUT
200000 cop/ul	25,45	127.382	---	---	MUT
200000 cop/ul	25,17	130.082	---	---	MUT
200000 cop/ul	25,38	126.081	---	---	MUT
200000 cop/ul	24,31	191.862	35,41	6.238	MUT
200000 cop/ul	24,65	172.718	36,43	5.258	MUT
200000 cop/ul	24,36	178.677	---	---	MUT
200000 cop/ul	24,19	151.183	39,04	5.230	MUT
200000 cop/ul	25,05	178.347	---	---	MUT
TH1 - CTRL POS	30,37	62773	30,83	40552	HET
TH1 - CTRL POS	29,09	77081	29,27	40542	HET
CR	---	---	---	---	NO DET
CR	36,71	72.789	---	---	NO DET

Los datos de ΔRn y Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación.
Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.

Bioq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DET x MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY

Apoderado

DET x MOL S.A.

Piso 3, Cabecera Nave 4, Campus Corporativo Cooperativo del Nucleo
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

5. DESEMPEÑO CON SISTEMAS DE PURIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS.

Se evaluó el desempeño del **MultiTarget® THR KIT** a partir de ADN genómico obtenido con distintos métodos comerciales de purificación. Se utilizó un panel de 15 muestras clínicas: 10 homocigotas normales (NOR#01 a NOR#10) y 5 heterocigotas (HET#01 a HET#05) para Factor II G20210A o Factor V Leiden. Los métodos empleados y los volúmenes de muestra y de elución utilizados, según recomendación del fabricante, fueron:

NOMBRE - CÓDIGO - MARCA	VOLUMEN	
	MUESTRA	ELUCIÓN
NucleoSpin Blood, Mini kit -740951.50 - Macherey-Nagel (Alemania)	200 µl	100 µl
ADN PuriPrep-S Kit - K1205 - Inbio Highway (Argentina)	200 µl	100 µl
MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit - 07658036001 - Roche (Suiza)	500 µl	100 µl
MagCore® Genomic DNA Whole Blood - MGB400-04/102 -RBCBioscience (Taiwan)	200 µl	100 µl

A cada eluato conteniendo el ADN_g purificado se lo cuantificó por medidas espectrofotométricas y se le calculó el índice de calidad A_{260nm}/A_{280nm} . Los resultados se detallan a continuación.

MUESTRAS	NucleoSpin Blood		PuriPrep-S		MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit		MagCore® Genomic DNA Whole Blood	
	[ADNg] (ng/µL)	$A_{260/280}$	[ADNg] (ng/µL)	$A_{260/280}$	[ADNg] (ng/µL)	$A_{260/280}$	[ADNg] (ng/µL)	$A_{260/280}$
FACTOR V LEIDEN								
NOR #01	28,50	1,86	12,70	2,24	28,20	2,08	18,60	1,81
NOR #02	81,30	1,74	9,80	1,90	79,80	1,91	54,90	1,84
NOR #03	21,70	1,83	10,50	1,67	28,90	1,87	20,30	1,53
NOR #04	58,70	1,85	13,60	2,00	18,50	1,89	65,60	1,85
NOR #05	42,00	1,85	5,20	1,82	17,80	1,91	19,00	1,77
NOR #06	66,10	1,83	5,90	2,07	19,80	1,87	79,70	1,84
NOR #07	30,00	1,86	3,20	2,02	10,00	1,83	16,20	1,74
NOR #08	35,10	1,78	10,50	1,96	126,90	1,91	72,50	1,86
NOR #09	41,80	1,85	13,90	1,94	48,50	1,98	51,30	1,85
NOR #10	29,00	1,83	12,80	2,00	37,10	1,92	22,00	1,83
HET #01	23,10	1,80	6,10	2,09	37,10	1,89	39,10	1,75
HET #02	30,80	1,91	4,80	1,83	31,40	1,93	31,00	1,76
HET #03	107,50	1,88	6,10	1,99	21,70	1,85	31,10	1,71
HET #04	29,60	1,82	6,80	2,00	59,50	1,91	44,60	1,78
HET #05	27,70	1,88	5,00	2,27	93,20	1,85	39,00	1,77
FACTOR II G20210A								
NOR #01	18,10	1,84	6,90	1,83	29,40	1,86	106,10	1,80
NOR #02	29,30	1,82	10,20	1,96	34,30	1,88	47,20	1,77
NOR #03	28,30	1,84	4,90	2,11	32,90	1,91	27,50	1,71
NOR #04	33,90	1,82	10,00	1,90	38,00	1,91	32,80	1,73
NOR #05	30,30	1,88	6,00	2,01	30,70	2,03	52,80	1,78
NOR #06	17,30	1,81	6,00	2,10	34,20	2,05	263,50	1,80
NOR #07	45,50	1,83	6,00	2,11	40,10	1,91	23,40	1,66
NOR #08	20,70	1,82	9,60	1,88	18,00	1,89	13,50	1,56
NOR #09	10,10	1,78	4,70	2,19	11,40	1,89	10,10	1,48
NOR #10	13,20	1,66	5,00	2,13	22,90	1,90	23,30	1,69
HET #01	68,30	1,86	5,80	2,19	27,50	1,88	27,50	1,74
HET #02	17,20	1,73	6,90	1,87	36,80	1,80	25,20	1,70
HET #03	3,10	1,77	6,20	1,82	19,20	1,90	28,5	1,72
HET #04	3,70	1,49	8,00	1,77	42,60	1,74	30,10	1,68
HET #05	36,80	1,82	8,50	1,94	90,50	2,11	43,80	1,77

Cada eluato se lo testeó en una única reacción por extracción con el **MultiTarget® THR KIT**. Los resultados obtenidos en la **TABLA 7** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

Bioq. GERMÁN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETx MOL S.A.

TABLA 7. DESEMPEÑO CON SISTEMAS DE PURIFICACIÓN DE ADNg (valores de Ct).

MUESTRAS	NucleoSpin Blood		PuriPrep-S		MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit		MagCore® Genomic DNA Whole Blood	
	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)
FACTOR V LEIDEN								
NOR #01	---	25,26	---	26,03	---	28,32	---	23,45
NOR #02	---	24,66	---	26,03	---	25,97	---	21,99
NOR #03	---	26,60	---	25,00	---	26,72	---	24,27
NOR #04	---	22,73	---	26,91	---	27,96	---	21,48
NOR #05	---	25,03	---	27,52	---	27,62	---	23,26
NOR #06	---	23,56	---	26,76	---	26,62	---	20,99
NOR #07	---	25,09	---	28,40	---	28,71	---	23,77
NOR #08	---	23,67	---	25,76	---	22,31	---	21,20
NOR #09	---	24,10	---	25,59	---	25,16	---	22,28
NOR #10	---	25,26	---	25,93	---	28,78	---	24,03
HET #01	27,54	26,13	29,29	28,46	27,59	26,99	24,50	23,93
HET #02	27,78	27,21	31,13	30,38	27,11	27,61	24,87	24,18
HET #03	24,62	24,36	30,40	29,52	27,24	27,24	23,84	23,81
HET #04	26,67	25,80	27,43	26,69	25,95	25,99	23,17	22,99
HET #05	26,42	26,15	28,91	28,89	24,62	24,28	24,14	23,93
FACTOR II G20210A								
NOR #01	---	24,37	---	25,44	---	23,59	---	21,04
NOR #02	---	23,85	---	25,31	---	23,17	---	22,31
NOR #03	---	23,00	---	26,55	---	23,39	---	23,25
NOR #04	---	23,26	---	24,75	---	23,28	---	22,30
NOR #05	---	23,11	---	25,90	---	23,42	---	21,81
NOR #06	---	24,00	---	25,76	---	22,52	---	19,64
NOR #07	---	22,76	---	25,24	---	22,66	---	23,46
NOR #08	---	23,70	---	26,53	---	23,67	---	24,41
NOR #09	---	21,75	---	28,24	---	25,00	---	25,31
NOR #10	---	24,72	---	26,39	---	24,12	---	23,64
HET #01	25,27	24,06	29,89	27,82	24,91	23,93	24,72	23,20
HET #02	25,33	24,63	30,82	28,96	24,41	23,49	25,18	24,10
HET #03	24,93	24,04	30,83	28,66	24,95	24,08	24,25	23,24
HET #04	25,88	24,89	33,17	29,82	23,93	23,01	23,90	23,01
HET #05	25,38	24,54	28,17	26,76	23,25	22,19	24,13	23,03

Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.

CONCLUSIÓN: Los resultados obtenidos para el **MultiTarget® THR KIT** fueron concordantes entre los distintos kits de aislamiento y purificación de ADNg que fueron utilizados.

6. PRECISIÓN/VARIABILIDAD.

Siguiendo las recomendaciones de la guía CLSI EP05-A3 se realizó un **análisis 5 x 5 x 3** (5 días - 5 réplicas - 3 equipos). Este protocolo brinda estimaciones de: reproducibilidad (*variación entre ensayos*), repetibilidad (*variación intraensayo*) y precisión intra-laboratorio (*variación de instrumento*).

Para ello, se empleó un panel de 5 muestras clínicas compuesto de 3 homocigotas normales (NOR#01 a NOR#03) y 2 heterocigotas (HET#01 y HET#02) para Factor V Leiden o Factor II G20210A), 1 dilución apropiada ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT) para simular una muestra homocigota mutado (MUT#01), el control positivo del kit (**TH1-CTRL POS**) y el control de reactivos.

Blog GERMAN PEREZ
Director Técnico

Dr. DIEGO CHOUHY

Piso 3, Cabecera de Ruta Provincial 15 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
Ruta provincial 15 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

Los equipos utilizados fueron: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific (QS3), Mic® qPCR Thermal Cycler-4 de Biomolecular Systems (MIC) y CFX96® de Biorad (CFX).

Los resultados abreviados (número de réplicas detectadas/número total de réplicas) se muestran en la **TABLA 8**.

TABLA 8. PRECISIÓN - RESUMEN (número de réplicas detectadas/número total de réplicas)															
MUESTRAS / CONTROLES	DÍA 1			DÍA 2			DÍA 3			DÍA 4			DÍA 5		
	QS3	MIC	CFX												
MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV															
NOR#01	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
NOR#02	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
NOR#03	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
HET#01	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
HET#02	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
MUT#01	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
TH1-CTRL POS	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
CR	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII															
NOR#01	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
NOR#02	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
NOR#03	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
HET#01	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
HET#02	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
PAT#01	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
TH1-CTRL POS	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
CR	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2

Los datos experimentales se muestran en la **TABLA 9** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

A partir de los datos experimentales de Ct obtenidos de cada una de las 5 réplicas ensayadas en los 3 equipos de qPCR por 5 días (**TABLA 9**) para cada sistema (**MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV** y **MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII**) se calcularon los promedios y desvíos estándar de cada canal (FAM y HEX/JOE/VIC) para cada clase de muestra o control: M.NOR (NOR#01 a NOR#03), M.HET (HET#01 y HET#02), M.MUT (MUT#01), control de reactivo (CR) y control positivo (**THR CTRL-POS**). Estos datos son presentados en la Tabla 10 a continuación.

TABLA 10. PRECISIÓN - VALORES PROMEDIOS DE Ct CON DESVÍO ESTANDART

MUESTRAS/ CONTROLES	Ct (PROMEDIO ± DESVIO ESTANDART)			
	FACTOR V LEIDEN		FACTOR II G20210A	
	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)
M.NOR	---	25,99 ± 0,5	---	27,43 ± 1,0
M.HET	26,90 ± 0,7	26,90 ± 0,4	30,15 ± 1,0	28,75 ± 0,9
M.MUT	29,93 ± 0,6	---	29,99 ± 0,7	---
TH1-CTRL POS	31,39 ± 0,7	28,43 ± 0,5	31,39 ± 0,7	30,88 ± 0,7
CR	---	---	---	---

CONCLUSIÓN: El **MultiTarget® THR KIT** demostró una reproducibilidad, repetitividad y precisión intra-laboratorio del 100% para la detección de los alelos normal y mutado de Factor V Leiden y Factor II G20210A.

Bloq. GERMAN PEREZ

Piso 3, C/ Director Técnico, Campus Corporativo Cooperativo N° 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DET x MOL S.A.
detx mol

TABLA 9A. PRECISIÓN - FACTOR V LEIDEN- DÍA 1

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN
NOR #01	1	---	27,10	NOR	---	27,52	NOR	---	25,46	NOR
	2	---	26,97	NOR	---	27,05	NOR	---	25,49	NOR
	3	---	26,55	NOR	---	26,71	NOR	---	25,34	NOR
	4	---	26,36	NOR	---	26,45	NOR	---	25,31	NOR
	5	---	25,64	NOR	---	26,59	NOR	---	25,46	NOR
NOR #02	1	---	25,67	NOR	---	26,20	NOR	---	24,65	NOR
	2	---	26,32	NOR	---	26,00	NOR	---	24,74	NOR
	3	---	26,11	NOR	---	25,61	NOR	---	24,71	NOR
	4	---	26,28	NOR	---	26,24	NOR	---	25,20	NOR
	5	---	26,40	NOR	---	26,25	NOR	---	25,00	NOR
NOR #03	1	---	25,29	NOR	---	25,35	NOR	---	24,54	NOR
	2	---	25,65	NOR	---	24,77	NOR	---	24,10	NOR
	3	---	25,40	NOR	---	26,41	NOR	---	24,38	NOR
	4	---	25,24	NOR	---	25,67	NOR	---	24,29	NOR
	5	---	24,87	NOR	---	25,35	NOR	---	24,34	NOR
HET #01	1	29,61	27,05	HET	29,66	26,67	HET	26,08	25,67	HET
	2	30,28	27,50	HET	27,43	25,96	HET	25,90	26,05	HET
	3	29,72	27,09	HET	27,47	26,08	HET	26,20	26,07	HET
	4	29,61	27,00	HET	27,60	26,19	HET	26,16	26,17	HET
	5	29,38	27,07	HET	27,49	26,06	HET	25,83	25,71	HET
HET #02	1	28,87	26,87	HET	31,12	27,83	HET	25,79	26,12	HET
	2	28,57	26,67	HET	30,72	27,46	HET	25,86	26,02	HET
	3	29,21	27,18	HET	30,16	27,09	HET	25,78	26,21	HET
	4	28,51	26,61	HET	29,48	26,82	HET	26,20	26,15	HET
	5	30,29	27,79	HET	37,13	30,87	HET	26,47	26,68	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	30,62	---	MUT	35,79	---	MUT	27,07	---	MUT
	2	29,89	---	MUT	37,24	---	MUT	26,80	---	MUT
	3	30,34	---	MUT	35,54	---	MUT	27,10	---	MUT
	4	29,81	---	MUT	30,44	---	MUT	26,76	---	MUT
	5	30,02	---	MUT	30,19	---	MUT	26,43	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	29,56	27,49	HET	31,10	28,01	HET	26,45	26,75	HET
	2	29,24	27,37	HET	30,92	27,92	HET	27,66	27,84	HET
	3	31,26	28,92	HET	31,76	28,53	HET	27,20	27,49	HET
	4	32,08	28,74	HET	30,99	27,98	HET	27,06	26,99	HET
	5	30,67	28,46	HET	30,58	27,85	HET	26,66	26,84	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.



DR. DIEGO CHOUBY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.



Bloq. Gerente Técnico
DETx MOL S.A.
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



TABLA 9A. PRECISIÓN - FACTOR V LEIDEN- DÍA 2

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN
NOR #01	1	---	26,79	NOR	36,50	26,41	NOR	29,49	25,63	NOR
	2	---	26,95	NOR	35,37	26,19	NOR	28,56	25,26	NOR
	3	35,41	26,38	NOR	35,50	26,16	NOR	28,77	25,47	NOR
	4	39,15	26,42	NOR	35,14	25,77	NOR	28,68	25,33	NOR
	5	34,17	25,93	NOR	35,90	26,35	NOR	28,89	25,23	NOR
NOR #02	1	34,27	25,84	NOR	35,71	25,75	NOR	28,52	24,55	NOR
	2	36,69	25,83	NOR	35,12	25,60	NOR	27,94	24,99	NOR
	3	35,38	25,50	NOR	35,64	25,67	NOR	29,53	24,78	NOR
	4	38,83	26,68	NOR	37,24	26,25	NOR	28,53	24,89	NOR
	5	---	26,13	NOR	---	31,27	NOR	28,32	24,99	NOR
NOR #03	1	---	25,78	NOR	34,61	25,13	NOR	28,06	24,29	NOR
	2	---	25,97	NOR	33,67	24,51	NOR	27,80	24,13	NOR
	3	39,12	25,43	NOR	36,51	25,42	NOR	27,60	24,27	NOR
	4	---	25,50	NOR	35,49	25,33	NOR	27,76	24,07	NOR
	5	34,64	24,79	NOR	35,21	25,31	NOR	28,50	24,36	NOR
HET #01	1	29,67	27,27	HET	29,56	26,99	HET	25,90	25,80	HET
	2	29,65	27,24	HET	31,09	28,01	HET	25,88	26,08	HET
	3	29,58	27,30	HET	30,39	27,57	HET	25,96	26,15	HET
	4	30,57	27,88	HET	29,47	26,86	HET	25,76	26,09	HET
	5	29,19	27,13	HET	28,92	26,51	HET	26,12	26,15	HET
HET #02	1	27,23	25,47	HET	31,12	27,97	HET	25,95	26,30	HET
	2	28,92	27,32	HET	30,42	27,68	HET	26,04	26,13	HET
	3	28,49	26,82	HET	30,25	27,57	HET	26,26	26,43	HET
	4	28,73	26,81	HET	30,23	27,56	HET	26,27	26,32	HET
	5	29,94	27,63	HET	29,79	27,15	HET	26,51	26,64	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	30,64	---	MUT	30,20	---	MUT	26,89	---	MUT
	2	30,36	---	MUT	30,08	---	MUT	26,75	---	MUT
	3	30,25	---	MUT	29,80	---	MUT	26,67	---	MUT
	4	29,93	---	MUT	30,65	---	MUT	26,77	---	MUT
	5	30,05	---	MUT	30,31	---	MUT	26,47	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	29,53	27,96	HET	30,57	28,10	HET	27,06	27,26	HET
	2	30,02	28,06	HET	30,38	28,01	HET	27,32	27,44	HET
	3	30,54	28,64	HET	30,68	28,06	HET	27,44	27,53	HET
	4	31,74	29,08	HET	30,05	27,65	HET	26,87	27,49	HET
	5	30,25	28,00	HET	30,28	27,84	HET	27,02	27,40	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.

[Firma]
DR. DIEGO CHO
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

[Firma]
GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

detxmol
 Campus Corporativo Cooperativo Núcleo
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar
 TE: +54 (0341) 7352035

TABLA 9A. PRECISIÓN - FACTOR V LEIDEN- DÍA 3

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN
NOR #01	1	---	27,09	NOR	33,79	26,22	NOR	---	25,53	NOR
	2	---	27,41	NOR	34,67	26,16	NOR	---	25,48	NOR
	3	---	27,37	NOR	34,57	26,11	NOR	---	25,56	NOR
	4	---	27,27	NOR	36,29	26,07	NOR	---	25,27	NOR
	5	---	27,07	NOR	34,74	26,09	NOR	---	25,52	NOR
NOR #02	1	---	26,75	NOR	34,92	25,97	NOR	---	24,92	NOR
	2	35,88	26,62	NOR	34,75	25,96	NOR	---	25,11	NOR
	3	---	26,57	NOR	35,02	25,70	NOR	---	24,96	NOR
	4	---	26,84	NOR	35,50	26,14	NOR	---	25,10	NOR
	5	---	27,32	NOR	36,74	25,73	NOR	---	25,07	NOR
NOR #03	1	---	26,46	NOR	34,49	25,15	NOR	---	24,28	NOR
	2	---	26,47	NOR	34,14	25,13	NOR	---	24,23	NOR
	3	---	26,54	NOR	34,12	25,13	NOR	---	24,34	NOR
	4	---	26,63	NOR	33,95	25,09	NOR	---	24,27	NOR
	5	35,45	25,76	NOR	33,58	24,57	NOR	---	24,50	NOR
HET #01	1	30,76	28,14	HET	29,33	26,81	HET	26,11	25,98	HET
	2	31,14	28,35	HET	30,70	27,59	HET	26,59	26,40	HET
	3	31,97	28,94	HET	30,35	27,53	HET	26,38	26,44	HET
	4	30,46	28,07	HET	30,07	27,19	HET	26,19	26,16	HET
	5	30,22	28,03	HET	29,95	27,22	HET	25,94	26,00	HET
HET #02	1	29,08	27,43	HET	30,75	27,96	HET	26,47	26,41	HET
	2	28,37	26,90	HET	30,76	27,68	HET	26,22	26,24	HET
	3	28,77	27,12	HET	30,28	27,56	HET	26,31	26,40	HET
	4	29,09	27,48	HET	29,74	27,28	HET	26,25	26,31	HET
	5	31,27	28,66	HET	30,65	27,75	HET	26,72	26,90	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	30,84	---	MUT	31,33	---	MUT	27,00	---	MUT
	2	31,20	---	MUT	31,05	---	MUT	27,19	---	MUT
	3	30,04	---	MUT	30,70	---	MUT	26,72	---	MUT
	4	29,57	---	MUT	30,48	---	MUT	27,07	---	MUT
	5	30,02	---	MUT	30,58	---	MUT	26,87	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	30,04	28,45	HET	30,90	28,13	HET	27,35	27,38	HET
	2	30,27	28,57	HET	30,63	27,98	HET	27,70	27,49	HET
	3	32,57	29,84	HET	31,77	28,78	HET	27,25	27,32	HET
	4	33,32	29,97	HET	31,32	28,58	HET	27,28	27,39	HET
	5	32,07	29,53	HET	31,22	28,45	HET	27,24	27,22	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.


Dr. DIEGO CHOUH
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

Bioq. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



TABLA 9A. PRECISIÓN - FACTOR V LEIDEN- DÍA 4

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN
NOR #01	1	---	25,99	NOR	35,12	25,47	NOR	---	25,89	NOR
	2	---	26,76	NOR	35,68	25,51	NOR	---	25,36	NOR
	3	37,59	26,24	NOR	33,84	25,42	NOR	---	25,30	NOR
	4	39,53	25,50	NOR	34,02	25,38	NOR	---	25,22	NOR
	5	36,30	26,08	NOR	35,05	25,62	NOR	---	25,36	NOR
NOR #02	1	35,72	25,77	NOR	33,75	25,17	NOR	---	24,71	NOR
	2	---	26,04	NOR	35,76	25,24	NOR	---	25,11	NOR
	3	38,02	25,64	NOR	36,16	25,19	NOR	---	25,10	NOR
	4	---	26,14	NOR	35,73	25,20	NOR	---	25,31	NOR
	5	---	26,57	NOR	38,52	25,25	NOR	---	25,25	NOR
NOR #03	1	---	25,84	NOR	36,72	24,48	NOR	---	24,65	NOR
	2	---	25,71	NOR	33,15	24,30	NOR	---	24,25	NOR
	3	---	24,96	NOR	34,08	24,50	NOR	---	24,21	NOR
	4	---	25,33	NOR	34,22	24,59	NOR	---	24,33	NOR
	5	37,82	25,20	NOR	33,12	24,34	NOR	---	24,25	NOR
HET #01	1	29,62	27,11	HET	28,11	25,99	HET	25,94	25,83	HET
	2	29,55	27,05	HET	29,17	26,58	HET	25,98	26,29	HET
	3	30,10	27,60	HET	29,00	26,46	HET	25,97	26,27	HET
	4	29,08	26,94	HET	28,87	26,38	HET	26,05	26,12	HET
	5	29,20	27,03	HET	29,06	26,39	HET	25,72	25,77	HET
HET #02	1	28,36	26,67	HET	29,44	26,84	HET	25,96	26,28	HET
	2	28,51	26,73	HET	29,30	26,88	HET	25,48	25,96	HET
	3	28,96	26,97	HET	28,76	26,60	HET	26,07	26,33	HET
	4	28,23	26,47	HET	28,27	26,13	HET	25,79	25,87	HET
	5	30,03	27,40	HET	29,00	26,58	HET	26,23	26,81	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	31,00	---	MUT	29,27	---	MUT	27,26	---	MUT
	2	30,10	---	MUT	29,07	---	MUT	27,33	---	MUT
	3	29,59	---	MUT	28,89	---	MUT	26,70	---	MUT
	4	29,51	---	MUT	28,77	---	MUT	26,45	---	MUT
	5	30,24	---	MUT	28,99	---	MUT	26,92	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	30,20	28,00	HET	29,37	27,19	HET	27,05	27,10	HET
	2	29,51	27,67	HET	29,14	27,07	HET	27,41	27,22	HET
	3	30,54	28,28	HET	29,94	27,55	HET	26,47	26,81	HET
	4	30,90	28,56	HET	29,86	27,28	HET	27,13	27,19	HET
	5	31,51	28,82	HET	29,85	27,49	HET	26,56	26,88	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.


Dr. DIEGO CHOUH
Apoderado
DETX MOL S.A.


Bloq. GERENTE
Director Técnico
DETX MOL S.A.
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

TABLA 9A. PRECISI3N - FACTOR V LEIDEN- DÍA 5

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N
NOR #01	1	---	25,85	NOR	35,67	26,05	NOR	30,41	25,41	NOR
	2	---	25,85	NOR	36,02	26,08	NOR	29,07	25,49	NOR
	3	---	26,19	NOR	36,09	26,06	NOR	29,32	25,36	NOR
	4	36,87	25,63	NOR	35,59	26,16	NOR	28,82	25,09	NOR
	5	32,96	25,19	NOR	35,58	26,19	NOR	30,23	25,51	NOR
NOR #02	1	38,23	25,31	NOR	35,55	25,73	NOR	28,90	24,94	NOR
	2	33,87	24,84	NOR	35,48	25,43	NOR	28,81	24,99	NOR
	3	---	25,21	NOR	35,69	25,52	NOR	31,58	24,91	NOR
	4	---	25,77	NOR	35,74	25,51	NOR	30,27	25,26	NOR
	5	---	25,63	NOR	35,47	25,43	NOR	29,32	25,30	NOR
NOR #03	1	---	24,91	NOR	34,03	24,46	NOR	29,24	24,49	NOR
	2	---	25,15	NOR	33,70	24,24	NOR	28,35	24,37	NOR
	3	---	24,87	NOR	34,80	25,04	NOR	29,80	24,64	NOR
	4	---	24,83	NOR	35,25	24,95	NOR	29,04	24,42	NOR
	5	34,50	24,52	NOR	34,55	24,54	NOR	29,88	24,87	NOR
HET #01	1	28,46	26,47	HET	29,51	26,87	HET	26,35	26,24	HET
	2	28,72	26,72	HET	30,39	27,23	HET	26,37	26,55	HET
	3	28,27	26,55	HET	29,84	26,85	HET	26,41	26,49	HET
	4	29,00	27,05	HET	29,62	26,61	HET	26,35	26,27	HET
	5	28,15	26,38	HET	29,81	26,86	HET	26,44	26,35	HET
HET #02	1	27,31	25,70	HET	29,96	27,14	HET	26,48	26,44	HET
	2	27,89	26,35	HET	29,69	27,00	HET	26,58	26,50	HET
	3	27,72	26,08	HET	30,04	27,17	HET	26,18	26,21	HET
	4	27,99	26,39	HET	29,75	27,05	HET	26,72	26,82	HET
	5	29,14	26,90	HET	30,30	27,45	HET	27,12	27,09	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	29,42	---	MUT	31,07	---	MUT	26,84	---	MUT
	2	28,98	---	MUT	31,35	---	MUT	27,16	---	MUT
	3	28,69	---	MUT	30,94	---	MUT	26,81	---	MUT
	4	28,23	37,77	MUT	31,14	---	MUT	26,84	---	MUT
	5	28,84	---	MUT	31,02	---	MUT	27,00	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	30,10	28,28	HET	31,32	28,34	HET	26,81	27,08	HET
	2	29,26	27,73	HET	31,13	28,32	HET	27,36	27,27	HET
	3	30,12	28,23	HET	31,68	28,57	HET	27,35	27,60	HET
	4	29,74	27,88	HET	30,94	28,09	HET	27,09	27,30	HET
	5	30,28	28,19	HET	31,16	28,30	HET	27,34	27,46	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificaci3n. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.


Diego Chouffé
 Apoderado
 DETX MOL S.A.


Germán Pérez
 Director Técnico
 DETX MOL S.A.
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

TABLA 9B. PRECISI3N - FACTOR II G20210A- DÍA 1

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N
NOR #01	1	---	28,1	NOR	---	28,28	NOR	---	26,11	NOR
	2	---	28,3	NOR	---	28,42	NOR	---	25,78	NOR
	3	---	28,5	NOR	---	28,04	NOR	---	26,15	NOR
	4	---	27,7	NOR	---	27,56	NOR	---	25,51	NOR
	5	---	26,8	NOR	---	27,30	NOR	---	25,87	NOR
NOR #02	1	---	27,2	NOR	---	26,40	NOR	---	25,03	NOR
	2	---	27,1	NOR	---	26,33	NOR	---	25,06	NOR
	3	---	27,1	NOR	---	26,34	NOR	---	25,02	NOR
	4	---	28,4	NOR	---	27,00	NOR	---	25,66	NOR
	5	---	28,4	NOR	---	26,61	NOR	---	25,36	NOR
NOR #03	1	---	26,8	NOR	---	26,33	NOR	---	24,81	NOR
	2	---	26,8	NOR	---	26,19	NOR	---	24,63	NOR
	3	---	26,4	NOR	---	26,04	NOR	---	24,55	NOR
	4	---	26,8	NOR	---	26,59	NOR	---	24,67	NOR
	5	---	26,2	NOR	---	26,14	NOR	---	24,64	NOR
HET #01	1	29,4	28,6	HET	31,92	29,93	HET	25,95	26,82	HET
	2	30,6	29,7	HET	29,72	27,88	HET	26,30	27,34	HET
	3	31,6	30,3	HET	29,52	27,71	HET	26,25	27,04	HET
	4	30,2	29,6	HET	30,17	28,05	HET	26,02	26,77	HET
	5	29,9	29,3	HET	29,97	28,09	HET	26,26	26,85	HET
HET #02	1	28,0	27,7	HET	30,30	28,14	HET	25,49	26,39	HET
	2	28,5	28,0	HET	30,17	27,91	HET	25,34	26,24	HET
	3	29,8	29,2	HET	30,30	28,15	HET	25,21	25,97	HET
	4	29,1	28,3	HET	30,05	28,10	HET	25,59	26,22	HET
	5	28,3	27,8	HET	30,85	28,62	HET	25,62	26,46	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	29,8	---	MUT	31,38	---	MUT	26,38	---	MUT
	2	29,7	---	MUT	29,64	---	MUT	26,43	---	MUT
	3	29,8	---	MUT	30,02	---	MUT	26,50	---	MUT
	4	29,0	---	MUT	31,53	---	MUT	26,31	---	MUT
	5	28,3	---	MUT	31,56	---	MUT	26,31	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	29,7	29,7	HET	33,51	31,05	HET	26,86	28,15	HET
	2	29,6	29,4	HET	33,27	30,92	HET	26,39	27,66	HET
	3	31,3	31,0	HET	31,09	29,53	HET	27,01	28,10	HET
	4	31,6	31,1	HET	30,29	28,62	HET	26,86	28,30	HET
	5	31,5	31,0	HET	30,79	29,07	HET	26,69	28,19	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificaci3n. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.


DR. DIEGO CHOUHRY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


DR. GERMAIN PERY
 Director
 DETx MOL S.A.

DETx MOL S.A.
 Piso 5, Calles 16 y 17, Campus Corporativo Cooperativo Nucleo
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



TABLA 9B. PRECISIÓN - FACTOR II G20210A- DÍA 2

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN
NOR #01	1	---	29,82	NOR	---	29,20	NOR	---	26,18	NOR
	2	---	29,70	NOR	---	28,97	NOR	---	26,04	NOR
	3	---	29,05	NOR	---	28,26	NOR	---	26,06	NOR
	4	---	28,44	NOR	---	27,96	NOR	---	25,91	NOR
	5	---	28,40	NOR	---	27,02	NOR	---	26,00	NOR
NOR #02	1	---	27,86	NOR	---	26,25	NOR	---	25,15	NOR
	2	---	27,87	NOR	---	26,15	NOR	---	24,81	NOR
	3	---	27,85	NOR	---	25,76	NOR	---	24,94	NOR
	4	---	28,64	NOR	---	27,16	NOR	---	25,27	NOR
	5	---	28,03	NOR	---	27,06	NOR	---	25,07	NOR
NOR #03	1	---	27,62	NOR	---	26,15	NOR	---	24,73	NOR
	2	---	27,59	NOR	---	25,90	NOR	---	24,57	NOR
	3	---	27,02	NOR	---	26,15	NOR	---	24,68	NOR
	4	---	26,91	NOR	---	25,83	NOR	---	24,52	NOR
	5	---	26,34	NOR	---	25,35	NOR	---	24,89	NOR
HET #01	1	29,70	28,97	HET	30,76	28,07	HET	25,70	27,30	HET
	2	31,09	30,04	HET	31,44	28,40	HET	26,23	27,59	HET
	3	31,94	30,61	HET	31,10	28,27	HET	26,37	27,44	HET
	4	30,47	30,04	HET	31,13	28,23	HET	26,06	27,19	HET
	5	30,00	29,50	HET	31,08	28,20	HET	26,13	27,25	HET
HET #02	1	28,59	28,14	HET	30,21	27,42	HET	25,44	26,54	HET
	2	28,77	28,24	HET	29,93	27,25	HET	25,62	26,53	HET
	3	29,28	28,64	HET	29,60	27,04	HET	25,34	26,35	HET
	4	28,68	28,09	HET	29,79	27,06	HET	25,38	26,43	HET
	5	30,70	29,70	HET	31,69	28,40	HET	25,72	26,84	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	31,51	---	MUT	32,12	---	MUT	26,65	---	MUT
	2	30,91	---	MUT	31,81	---	MUT	26,36	---	MUT
	3	29,89	---	MUT	31,48	---	MUT	26,41	---	MUT
	4	28,57	---	MUT	31,80	---	MUT	26,18	---	MUT
	5	29,83	---	MUT	31,34	---	MUT	26,41	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	30,76	30,66	HET	32,12	29,40	HET	26,73	28,00	HET
	2	30,72	30,43	HET	31,61	29,05	HET	26,57	27,81	HET
	3	31,68	31,36	HET	33,10	30,11	HET	26,70	28,23	HET
	4	32,61	31,75	HET	32,41	29,57	HET	26,95	28,36	HET
	5	32,17	31,36	HET	32,26	29,38	HET	26,58	27,98	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de ThermoFisher Scientific.


Diego CHOUH
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Germain PERES
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

Cooperativo Nucleo
 Campus Corporativo
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar
 TE: +54 (0341) 7352035

detxmol

TABLA 9B. PRECISI3N - FACTOR II G20210A- DÍA 3

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N
NOR #01	1	---	30,28	NOR	---	25,50	NOR	---	26,0	NOR
	2	---	29,39	NOR	---	24,63	NOR	---	25,8	NOR
	3	---	29,69	NOR	---	24,74	NOR	---	26,2	NOR
	4	---	29,78	NOR	---	24,32	NOR	---	26,0	NOR
	5	---	28,71	NOR	---	25,04	NOR	---	26,1	NOR
NOR #02	1	---	28,78	NOR	---	25,00	NOR	---	25,3	NOR
	2	---	28,42	NOR	---	25,11	NOR	---	25,3	NOR
	3	---	28,34	NOR	---	24,74	NOR	---	25,2	NOR
	4	---	28,69	NOR	---	24,10	NOR	---	25,7	NOR
	5	---	28,59	NOR	---	24,16	NOR	---	25,6	NOR
NOR #03	1	---	28,25	NOR	---	23,55	NOR	---	25,3	NOR
	2	---	27,47	NOR	---	23,44	NOR	---	24,8	NOR
	3	---	27,18	NOR	---	23,61	NOR	---	24,8	NOR
	4	---	27,54	NOR	---	23,83	NOR	---	24,8	NOR
	5	---	26,97	NOR	---	23,74	NOR	---	25,0	NOR
HET #01	1	30,69	29,77	HET	28,10	25,85	HET	26,22	27,0	HET
	2	32,53	31,27	HET	28,47	26,25	HET	26,58	27,6	HET
	3	32,76	31,33	HET	29,28	26,83	HET	26,24	27,3	HET
	4	32,40	31,15	HET	29,12	26,75	HET	26,27	27,2	HET
	5	30,94	30,16	HET	30,71	28,01	HET	26,24	27,2	HET
HET #02	1	30,35	29,58	HET	29,05	26,29	HET	25,96	26,7	HET
	2	30,26	29,60	HET	27,87	25,40	HET	25,43	26,3	HET
	3	30,68	29,61	HET	27,71	25,27	HET	25,79	26,6	HET
	4	29,74	28,87	HET	27,39	25,12	HET	25,51	26,4	HET
	5	30,81	29,99	HET	27,35	25,14	HET	26,27	27,1	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	31,40	---	MUT	28,33	---	MUT	27,03	---	MUT
	2	32,41	---	MUT	28,48	---	MUT	27,18	---	MUT
	3	30,87	---	MUT	28,60	---	MUT	26,61	---	MUT
	4	30,14	---	MUT	27,90	---	MUT	26,74	---	MUT
	5	30,35	---	MUT	27,84	---	MUT	26,80	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	30,29	30,43	HET	28,23	26,58	HET	27,13	28,3	HET
	2	31,77	31,01	HET	28,00	26,07	HET	27,15	28,3	HET
	3	32,91	32,32	HET	28,66	26,51	HET	27,12	28,2	HET
	4	33,17	32,08	HET	27,85	25,92	HET	26,94	28,1	HET
	5	31,82	31,48	HET	28,02	26,10	HET	26,62	28,0	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	36,61	36,4	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	35,32	36,1	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificaci3n. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de ThermoFisher Scientific.


DR. DIEGO CHOUH
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Bloq. GERMAN FERRER
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detxmol
 detxmol.com.ar

TABLA 9B. PRECISI3N - FACTOR II G20210A- DÍA 4

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACI3N
NOR #01	1	---	29,00	NOR	---	27,25	NOR	---	26,10	NOR
	2	---	28,89	NOR	---	27,22	NOR	---	26,11	NOR
	3	---	28,43	NOR	---	26,48	NOR	---	26,26	NOR
	4	---	27,78	NOR	---	26,46	NOR	---	25,71	NOR
	5	---	27,46	NOR	---	27,69	NOR	---	26,02	NOR
NOR #02	1	---	27,19	NOR	---	26,92	NOR	---	25,13	NOR
	2	---	27,38	NOR	---	27,11	NOR	---	24,91	NOR
	3	---	27,02	NOR	---	26,45	NOR	---	24,98	NOR
	4	---	27,85	NOR	---	27,67	NOR	---	25,57	NOR
	5	---	27,97	NOR	---	27,28	NOR	---	25,41	NOR
NOR #03	1	---	26,63	NOR	---	26,14	NOR	---	25,15	NOR
	2	---	26,12	NOR	---	25,03	NOR	---	24,62	NOR
	3	---	25,78	NOR	---	33,08	NOR	---	24,78	NOR
	4	---	26,17	NOR	---	31,63	NOR	---	24,57	NOR
	5	---	26,20	NOR	---	31,89	NOR	---	24,98	NOR
HET #01	1	28,45	27,95	HET	28,03	26,60	HET	25,62	26,63	HET
	2	29,80	29,38	HET	34,47	31,26	HET	26,48	27,22	HET
	3	30,21	29,54	HET	33,67	30,71	HET	25,96	27,04	HET
	4	30,62	29,59	HET	33,15	30,45	HET	26,12	27,36	HET
	5	28,77	28,44	HET	33,46	30,87	HET	25,62	26,95	HET
HET #02	1	27,72	27,26	HET	30,47	28,06	HET	25,67	26,80	HET
	2	28,17	27,60	HET	30,49	27,82	HET	25,39	26,62	HET
	3	28,06	27,72	HET	29,90	27,38	HET	25,69	26,65	HET
	4	27,75	26,99	HET	29,27	26,83	HET	25,54	26,34	HET
	5	29,84	28,98	HET	29,76	27,20	HET	25,48	26,83	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	29,34	---	MUT	30,43	---	MUT	26,39	---	MUT
	2	30,13	---	MUT	30,07	---	MUT	26,30	---	MUT
	3	28,93	---	MUT	30,08	---	MUT	26,20	---	MUT
	4	28,75	---	MUT	29,25	---	MUT	26,15	---	MUT
	5	29,22	---	MUT	30,01	---	MUT	26,06	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	29,51	29,11	HET	30,42	28,36	HET	26,15	27,27	HET
	2	29,77	29,06	HET	30,31	28,15	HET	26,33	27,40	HET
	3	30,40	30,16	HET	30,20	28,04	HET	27,01	28,42	HET
	4	31,83	30,92	HET	30,10	28,01	HET	26,61	27,85	HET
	5	30,96	30,62	HET	30,18	28,01	HET	26,67	28,05	HET
CR	1	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificaci3n. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific


Dr. DIEGO CHOUBY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


BIOG. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.
 e 4, Campus Corporativo Cooperativo Núcleo
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2.130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detsmol.com.ar www.detsmol.com.ar

TABLA 9B. PRECISIÓN - FACTOR II G20210A- DÍA 5

MUESTRAS / CONTROLES	RÉPLICA	QS3			MIC			CFX		
		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN
NOR #01	1	---	26,72	NOR	---	27,47	NOR	---	26,87	NOR
	2	---	26,38	NOR	---	28,39	NOR	---	26,23	NOR
	3	---	26,65	NOR	---	28,24	NOR	---	26,27	NOR
	4	---	26,23	NOR	---	28,03	NOR	---	26,28	NOR
	5	---	25,94	NOR	---	28,60	NOR	---	26,21	NOR
NOR #02	1	---	25,63	NOR	---	28,44	NOR	---	25,63	NOR
	2	---	25,40	NOR	---	28,10	NOR	---	25,18	NOR
	3	---	25,52	NOR	---	28,19	NOR	---	25,18	NOR
	4	---	26,03	NOR	---	28,30	NOR	---	26,14	NOR
	5	---	26,02	NOR	---	27,75	NOR	---	25,97	NOR
NOR #03	1	---	25,55	NOR	---	27,05	NOR	---	25,53	NOR
	2	---	25,56	NOR	---	26,45	NOR	---	25,55	NOR
	3	---	25,43	NOR	---	27,34	NOR	---	25,22	NOR
	4	---	25,31	NOR	---	27,12	NOR	---	25,28	NOR
	5	---	24,96	NOR	---	27,14	NOR	---	24,86	NOR
HET #01	1	27,67	27,24	HET	32,06	29,61	HET	26,21	27,08	HET
	2	32,66	31,83	HET	35,43	32,13	HET	26,77	28,00	HET
	3	33,89	32,43	HET	33,78	30,79	HET	26,62	27,46	HET
	4	33,32	31,70	HET	32,14	29,44	HET	26,48	27,43	HET
	5	32,00	31,47	HET	30,73	28,56	HET	26,15	27,39	HET
HET #02	1	30,32	29,73	HET	29,34	27,83	HET	25,96	26,78	HET
	2	30,78	29,92	HET	29,26	28,03	HET	25,86	26,77	HET
	3	31,17	30,20	HET	29,99	28,43	HET	25,41	26,19	HET
	4	29,16	28,63	HET	29,99	28,18	HET	25,67	26,25	HET
	5	31,29	30,34	HET	27,02	26,04	HET	26,18	27,00	HET
MUT #01 (pFII-MUT)	1	31,48	---	MUT	31,44	---	MUT	26,73	---	MUT
	2	30,57	---	MUT	32,00	---	MUT	26,75	---	MUT
	3	30,28	---	MUT	28,27	---	MUT	26,64	---	MUT
	4	28,57	---	MUT	31,37	---	MUT	26,42	---	MUT
	5	30,13	---	MUT	31,14	---	MUT	27,20	---	MUT
THR-CTRL POS (HET)	1	31,31	31,02	HET	31,77	29,86	HET	27,16	28,33	HET
	2	30,50	30,16	HET	31,66	29,72	HET	27,19	28,15	HET
	3	33,14	32,18	HET	34,18	31,60	HET	27,35	28,41	HET
	4	32,46	31,96	HET	32,58	30,26	HET	27,32	28,40	HET
	5	33,08	31,84	HET	31,47	29,76	HET	27,06	28,36	HET
CR	1	---	---	NO DET	30,09	---	NO DET	---	---	NO DET
	2	---	---	NO DET	---	---	NO DET	---	---	NO DET

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.


Dr. DIEGO CHOURY
Apoderado
DETX MOL S.A.


Bioq. GERMAIN PERZ
Piso Director Técnico
DETX MOL S.A.
Ruta Provincial 16 km 5, Alvear (2.130), Santa Fe, Argentina

7. ESTUDIO DE INTERFERENCIAS Y CONTAMINANTES.

Se evaluó el rendimiento del **MultiTarget® THR KIT** ante la presencia eventual de posibles sustancias endógenas y exógenas interferentes en la muestra.

Se analizó el desempeño del ensayo en muestras homocigota normal (NOR), partiendo de sangre entera anticoagulada con heparina (17 U/ml) y citrato (0,129 M), y en muestras heterocigotas (HET) la presencia de concentraciones elevadas de bilirrubina total (5,5 mg/dl) y triglicéridos (497 mg/dl).

En el caso de fármacos, se agregó la potencial sustancia interferente (en concentraciones efectivas altamente superiores a las descriptas para su uso clínico) a alícuotas de sangre entera anticoagulada con EDTA de muestras heterocigotas (HET) y se procedió a la purificación del ADNg con un método comercial (NucleoSpin Blood, Mini kit. Código 740951.50. *Macherey-Nagel. Alemania*) según instrucciones del fabricante. La concentración de ADNg se midió por método espectrofotométrico y se determinó la calidad del mismo calculando el índice A_{260nm}/A_{280nm} . Las sustancias ensayadas y sus concentraciones fueron: Aciclovir 10 mg/ml, Penicilina 1 mg/ml, Cefalexina 1 mg/ml, Ciprofloxacina 1 mg/ml, Diclofenac 1 mg/ml, Eritromicina 1 mg/ml, Fluconazol 1 mg/ml, Heparina 260 U/ml, Hidrocortisona 1 mg/ml, Ibuprofeno 1 mg/ml, Metronidazol 1 mg/ml, Paracetamol 1 mg/ml y Sulfametoxazol 1 mg/ml. Cada sustancia se ensayó por triplicado.

Además, se evaluó por triplicado la presencia de etanol al 5% en el eluato obtenido de sangre entera anticoagulada con EDTA de muestras heterocigotas (HET) como contaminante del proceso de extracción.

Los resultados se detallan en la Tabla 11.

TABLA 11. ESTUDIO DE INTERFERENTES Y CONTAMINANTES

INTERFERENTE	MUESTRA / CONTROL	[ADNg] (ng/uL)	A _{260/280}	MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII				MultiTarget® THR KI con OLIGO-FV			
				CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	
				Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn
	CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	THI-CTRL.POS	---	---	27,86	92124	27,96	44103	30,06	64349	27,88	74296
SE + Heparina	NOR #01	8,00	1,93	---	---	27,41	63122	38,02	17258	26,17	137111
				---	---	27,37	65259	---	---	25,95	132575
SE + citrato	NOR #02	23,80	1,82	---	---	26,69	62671	37,19	17890	25,37	138427
				---	---	25,00	69548	---	---	23,49	133747
Aciclovir 10 mg/ml	HET #03	21,20	1,8	---	---	24,60	66202	35,94	17760	23,58	124196
				---	---	25,72	65103	37,10	16701	23,98	143475
Penicilina 1 mg/ml	HET #04	24,60	1,84	27,41	51133	26,76	31683	26,38	91035	24,55	97566
				26,54	62372	26,30	36630	26,91	71642	24,65	81762
Cefalexina 1 mg/ml	HET #05	17,20	1,80	26,86	58928	26,90	33189	28,39	55682	25,73	73196
				26,81	50659	26,45	29901	27,03	67591	24,64	80892
Ciprofloxacina 1 mg/ml	HET #06	16,70	1,76	26,46	64395	26,65	34126	26,93	67261	24,68	75086
				26,24	67001	26,07	35462	27,18	64462	24,78	71274
Diclofenac 1 mg/ml	HET #07	16,90	1,76	27,03	68244	27,13	37539	26,69	73163	24,98	70992
				27,81	51156	27,28	30754	27,89	62328	25,37	76394
Sulfametoxazol 1 mg/ml	HET #07	16,90	1,76	26,89	63203	26,93	34451	27,08	75940	25,01	86099
				26,68	62772	26,89	34388	26,71	74350	24,75	81410
Ibuprofeno 1 mg/ml	HET #07	16,90	1,76	27,37	58654	27,62	34433	27,77	63925	25,25	84844
				27,38	59136	26,95	35277	28,36	53455	25,60	74303
Eritromicina 1 mg/ml	HET #07	16,90	1,76	26,74	66921	26,98	36278	26,43	82076	24,47	90419
				25,91	84960	26,28	42697	25,87	92690	24,15	89878
Paracetamol 1 mg/ml	HET #07	16,90	1,76	26,78	63211	27,07	33781	25,75	93621	24,17	86793

Eritromicina 1 mg/ml	HET #08	15,80	1,80	26,22	78347	26,84	42015	26,97	85204	25,16	88521
				27,27	63492	26,73	39184	27,09	76249	25,16	83809
				25,97	71398	25,78	43155	27,20	79405	25,09	90825
Fluconazol 1 mg/ml	HET#09	16,90	1,82	26,91	61131	26,50	38427	28,46	50101	25,20	80747
				26,51	75751	26,69	43714	27,51	63006	24,86	85206
				27,29	65720	27,02	38711	27,73	52719	24,85	76336
Heparina 260 U/ml	HET #10	6,00	1,71	27,77	82113	28,20	43878	30,41	56245	27,91	71595
				28,80	68718	28,98	40328	29,93	53930	27,48	62175
				29,08	57689	29,01	33074	30,39	55571	27,62	69426
Hidrocortisona 1 mg/ml	HET #11	17,80	1,85	25,55	96688	25,61	50639	27,34	67704	25,19	79849
				26,12	74554	26,19	41367	26,47	69516	24,79	70349
				27,32	53200	27,58	31027	28,70	56697	25,65	82422
Ibuprofeno 1 mg/ml	HET #12	12,30	1,70	27,18	38736	26,99	23224	27,50	68205	25,11	82826
				27,38	61681	27,24	34637	27,15	76053	24,96	92301
				26,53	65257	26,21	34493	26,63	89989	24,83	96998
Metronidazol 1 mg/ml	HET #13	53,10	1,84	24,15	93754	24,31	47046	26,43	81971	24,58	89333
				24,91	68042	24,87	36056	25,99	98461	24,27	104036
				24,18	88612	24,31	45118	26,59	76653	24,39	90257
Paracetamol 1 mg/ml	HET #14	11,50	1,73	26,68	62927	26,99	32804	27,26	77383	25,14	90563
				27,18	62272	27,01	35503	28,67	59950	25,95	80885
				27,08	65989	27,48	36212	27,64	64501	25,46	73372
Sulfametoxazol 1 mg/ml	HET #15 + 5%	19,40	1,53	26,41	86448	26,86	41020	27,13	67601	25,24	62633
				25,82	120380	26,14	54417	26,08	100543	24,59	87886
				25,87	115024	26,20	52831	26,03	96362	24,71	81544
Etanol en eluato 5 %	HET #16 + 5%	---	---	27,29	63426	26,72	38492	26,55	78996	24,56	85551
				27,05	74341	26,98	42585	27,43	59248	25,06	67941
				25,61	89159	25,69	46575	26,90	71847	24,94	77103
sin interferente	HET #16	15,40	1,77	26,42	74004	26,25	41967	27,19	68335	24,68	90560
				25,68	77098	25,94	40739	26,60	79998	24,57	92353
				26,33	77038	26,55	42118	26,53	80444	24,41	87088
Bilirrubina 5,5 mg/dl	HET #01	15,50	1,37	33,82	25.562	32,27	22.261	28,38	107649	26,45	124296
				29,24	60.311	28,48	40.530	28,08	94261	26,27	106433
Triglicéridos 497 mg/dl	HET #02	15,40	1,26	33,74	31.370	32,9	23.198	30,00	75398	27,84	103372
				30,88	50.573	30,16	35.725	30,84	61238	28,08	85296
sin interferente	HET #16	15,40	1,77	30,72	45.175	29,73	33.837	32,78	38.554	28,74	77.554
				29,09	81.398	29,19	43.274	28,27	102.773	26,65	112.203

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación
Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.

CONCLUSIÓN: Los resultados indican que de todas las sustancias evaluadas, el rendimiento de **MultiTarget® THR KIT** solo se ve afectado para la amplificación alélica de Factor II G20210A y Factor V Leiden (corrimiento en 2-3 unidades a valores mayores de Ct) en presencia de Heparina a altas concentraciones (260 U/ml). Sin embargo, en concentraciones recomendadas para anticoagular sangre entera (17 U/ml), se observa un corrimiento menor no afectando significativamente la interpretación del ensayo en el límite inferior del rango de concentración de ADNg.


BIOG. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETx MOL S.A.


Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETx MOL S.A.

8. ESTUDIOS DE VERIFICACIÓN EN EQUIPOS QPCR.

Considerando que los estudios de validación fueron realizados en el equipo QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific), se procedió a verificar el rango dinámico recomendado de ADN_g y la precisión para el **MultiTarget® THR KIT** en los siguientes equipos de qPCR:

- cobas z 480 analyzer (Roche Molecular Systems, Inc.)
- Step One Plus (Applied Biosystems).
- CFX96® (Biorad).
- Mic® qPCR Thermal Cycler- 4 (Biomolecular Systems).

Para ello verificar el rango dinámico, se procedió a realizar *pooles* de muestras homocigotas normales (P.NOR) y heterocigotas (P.HET) para Factor II G20210A y Factor V Leiden. Estos *pooles* de muestras fueron purificados con un método comercial (NucleoSpin Blood, Mini kit. Código 740951.50. Macherey-Nagel. Alemania) según instrucciones del fabricante y la concentración de ADN_g se midió por método espectrofotométrico. Finalmente, se ajustaron a concentraciones representativas de los límites inferior y superior (1 ng/ml y 100 ng/ml). Las muestras homocigotas mutados (MUT) fueron simuladas utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (2.000 cop/ml y 200.000 cop/ml de pFII-MUT o pFV-MUT). Se ensayaron 3 réplicas de cada uno con el **MultiTarget® THR KIT**.

Para verificar la precisión se utilizaron purificados de 3 muestras homocigotas normales (NOR#01, NOR#02 y NOR#03) y 2 muestras heterocigotas (HET#01 y HET#02) para Factor II G20210A y Factor V Leiden. La muestra homocigota mutado (MUT#01) fue simulada utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT). Se ensayaron 2 réplicas de cada uno con el **MultiTarget® THR KIT**.

Además, se incluyeron el control positivo (**TH1-CTRL POS**) del kit y un control de reacción. Los resultados abreviados (número de réplicas detectadas/número total de réplicas) se muestran en la **TABLA 12**. Los datos experimentales se muestran en la **TABLA 13** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

TABLA 12. VERIFICACIÓN EN EQUIPOS DE qPCR - RESUMEN
(número de réplicas detectadas/número total de réplicas)

MUESTRAS/ CONTROLES	[ADN _g]	MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII				MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV			
		z480	Step One Plus	CFX96	MIC4	z480	Step One Plus	CFX96	MIC4
VERIFICACIÓN DEL RANGO DINÁMICO									
P.NOR	1 ng/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
	100 ng/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
P.HET	1 ng/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
	100 ng/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
MUT	2000 cop/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
	200000 cop/ml	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
VERIFICACIÓN DE LA PRECISIÓN									
NOR#01	15 ng/μl	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
NOR#02	10 ng/μl	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
NOR#03	20 ng/μl	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
HET#01	10 ng/μl	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
HET#02	15 ng/μl	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
MUT#01	100000 cop/rxn	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2

CONCLUSIÓN: Los resultados obtenidos fueron concordantes (verificación del rango dinámico y precisión óptimas) en los distintos equipos de qPCR que fueron utilizados.

Bloc. GERMAN PEREZ

Dr. DIEGO CHOUHY

Piso 3, Director Técnico, Ruta Provincial 10 km 5, Alvear (2130), S.D.E.T. S.A. Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

TABLA 13A. VERIFICACIÓN EN EQUIPOS DE qPCR - FACTOR V LEIDEN (valores de Ct)

CIGOCIDAD	CONCENTRACIÓN	CANTIDAD POR REACCIÓN	z480		STEP ONE PLUS		CFX96		MIC4	
			CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)
VERIFICACIÓN DEL RANGO DINÁMICO										
P.NOR	1 ng/μl	5 ng	32,58	31,19	---	31,18	33,42	29,72	38,20	29,48
			---	31,71	35,02	32,52	33,96	29,24	---	29,27
			---	31,61	---	32,06	32,26	29,04	---	30,08
	100 ng/μl	500 ng	---	22,27	29,20	23,32	26,86	21,15	31,41	21,24
			---	22,58	30,13	25,18	27,41	21,17	30,75	20,93
			---	22,49	20,63	24,54	26,29	21,22	31,88	21,08
P.HET	1 ng/μl	5 ng	30,82	30,95	32,58	32,60	29,60	29,46	32,15	30,26
			30,93	30,98	31,03	32,06	29,34	29,23	31,76	30,03
			30,89	31,10	28,93	30,78	29,33	29,29	31,05	29,28
	100 ng/μl	500 ng	22,91	23,10	23,50	23,80	22,71	21,99	24,05	21,85
			23,14	23,18	25,43	25,01	22,99	22,41	25,96	22,82
			23,00	23,16	24,67	24,49	22,75	22,15	25,13	22,49
MUT	2.000 cop/μl	10.000 cop	32,49	---	31,29	---	30,20	---	32,87	---
			32,71	---	31,12	---	29,94	---	32,27	---
			32,09	---	31,56	---	30,67	---	32,07	---
	200.000 cop/μl	1.000.000 cop	25,64	---	24,69	---	24,12	---	26,75	---
			25,74	---	24,52	---	23,78	---	25,84	---
			25,70	---	24,95	---	23,81	---	25,01	---
VERIFICACIÓN DE LA PRECISIÓN										
NOR#01	15 ng/μl	---	---	25,77	35,31	26,79	28,62	24,53	34,03	24,38
			---	25,89	31,80	26,28	28,98	24,58	32,42	24,12
NOR#02	10 ng/μl	---	---	25,66	30,18	26,56	27,71	23,68	31,09	23,59
			---	25,44	31,58	25,91	28,03	24,09	31,62	23,96
NOR#03	20 ng/μl	---	---	24,75	32,48	25,76	28,58	23,49	31,34	23,26
			---	24,65	29,20	25,02	28,15	23,56	32,91	23,45
HET#01	10 ng/μl	---	25,99	26,19	26,01	26,62	25,31	25,07	28,39	25,94
			26,13	26,07	27,66	27,55	25,58	25,31	26,85	25,05
HET#02	15 ng/μl	---	26,75	26,65	27,34	27,45	26,04	25,72	27,53	25,57
			26,72	26,77	26,20	26,60	26,00	25,78	27,25	25,44
MUT#01	100.000 cop/μl	---	30,09	---	29,52	---	27,73	---	28,72	---
			29,42	---	28,59	---	27,38	---	28,82	38,90
TH1 - CTRL POS			27,53	27,70	28,72	29,30	27,31	27,06	28,48	26,65
CR			---	---	---	---	---	---	---	---

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific.



Dr. DIEGO CHOUH
Apoderado
DETX MOL S.A.



Blec GERMAN PEREZ
Director Técnico

Piso 3, DETX MOL S.A. ave 4, Campus Corporativo Cooperativo Nucleo

Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detxmol

TABLA 13A. VERIFICACIÓN EN EQUIPOS DE qPCR - FACTOR II G20210A

CIGOCIDAD	CONCENTRACIÓN	CANTIDAD POR REACCIÓN	z480		STEP ONE PLUS		CFX96		MIC4	
			CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)
VERIFICACIÓN DEL RANGO DINÁMICO										
P.NOR	1 ng/µl	5 ng	---	30,19	---	29,82	---	28,17	37,23	28,43
			---	30,22	---	30,19	---	28,83	35,27	28,16
			---	30,34	---	29,57	---	28,50	37,60	27,80
	100 ng/µl	500 ng	---	22,77	---	23,30	---	21,33	---	22,12
			---	21,74	---	22,60	---	21,35	---	22,25
			---	21,74	---	23,71	---	21,88	33,61	23,74
P.HET	1 ng/µl	5 ng	30,67	30,86	30,97	31,16	29,10	29,37	35,04	32,13
			30,58	30,59	29,81	30,92	28,71	29,37	34,04	31,60
			30,99	30,74	31,72	31,31	28,78	29,37	33,02	31,00
	100 ng/µl	500 ng	22,39	22,49	22,47	22,59	22,25	22,18	24,69	22,54
			22,49	22,59	24,99	24,40	22,18	22,37	xxx	xxx
			22,96	22,91	24,06	24,22	22,11	22,43	xxx	xxx
MUT	2.000 cop/µl	10.000 cop	33,04	---	31,87	38,13	28,85	38,22	31,17	---
			32,87	---	31,06	37,20	29,17	38,28	31,29	---
			31,74	---	30,99	35,11	30,10	---	31,32	---
	200.000 cop/µl	1.000.000 cop	24,92	---	25,85	31,90	23,39	34,90	25,10	---
			25,54	---	25,77	32,39	23,41	34,78	25,00	38,64
			26,04	---	25,42	32,18	23,30	33,11	24,48	36,05
VERIFICACIÓN DE LA PRECISIÓN										
NOR#01	15 ng/µl	---	---	26,65	---	26,60	---	24,97	29,88	24,02
NOR#02	10 ng/µl	---	---	26,48	---	26,08	---	25,22	33,65	24,23
NOR#03	20 ng/µl	---	---	25,86	37,52	25,26	---	24,19	34,58	24,02
				25,72	---	24,97	---	24,30	32,50	23,67
				25,13	---	24,24	---	23,84	30,95	22,75
				24,74	---	24,99	---	24,15	33,34	23,42
HET#01	10 ng/µl	---	27,01	27,06	27,52	27,25	25,43	26,15	26,44	25,29
			26,93	26,91	26,67	27,00	25,68	26,05	26,01	25,03
HET#02	15 ng/µl	---	25,89	26,05	25,56	25,72	25,19	25,50	25,68	24,52
			25,90	26,28	26,13	26,19	25,12	25,63	25,10	24,15
MUT#01	100.000 cop/µl	---	29,62	---	29,19	34,65	26,42	37,42	26,71	37,64
			28,71	---	27,83	33,10	26,54	36,70	26,31	36,86
TH1 - CTRL POS			27,53	27,70	28,38	28,19	28,05	27,83	26,62	27,28
CR			---	---	---	---	---	---	---	---

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific


DR. DIEGO CHOUY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

DR. GERMAIN PEREZ
 Director técnico

9. VALIDACIÓN CLÍNICA.

El rendimiento del ensayo **MultiTarget® THR KIT** se calculó en relación con los resultados de la secuenciación bidireccional por método Sanger (método de referencia).

Para ello, se utilizaron 356 muestras de sangre entera con EDTA obtenidas en 2 (dos) laboratorios de análisis clínicos a partir de pacientes con sospecha de trombofilia que habían sido analizadas primero mediante los métodos de rutina utilizados en cada laboratorio. Alícuota de cada una de esas muestras fueron recolectadas y almacenadas hasta el posterior aislamiento del ADN genómico con método comercial (NucleoSpin Blood, Mini kit. Código 740951.50. *Macherey-Nagel. Alemania*) según instrucciones del fabricante. La concentración de ADN_g se midió por método espectrofotométrico y se determinó la calidad del mismo calculando el índice A_{260nm}/A_{280nm} . A partir de los eluatos, se ensayó el **MultiTarget® THR KIT** y se realizó la amplificación de punto final y secuenciación bidireccional por método Sanger en un servicio tercerizado. Los datos experimentales se muestran en la **TABLA 14**.

Finalmente, se estimaron a nivel de genotipo (NOR: homocigota normal, HET: heterocigota y MUT: homocigota mutado) para el Factor V Leiden y el Factor II G20210A, la concordancia porcentual positiva (PPA), la concordancia porcentual negativa (NPA) y la concordancia porcentual general (OPA). Estos datos se detallan en la **TABLA 15** a continuación:

TABLA 15. VALIDACIÓN CLÍNICA - CONCORDANCIA						
EVALUACIÓN CLÍNICA - FACTOR V LEIDEN						
ALELO NORMAL	ALELO MUTADO	GENOTIPO	Nº muestras testeadas	Nº resultados correctos	Nº resultados incorrectos	Porcentaje Concordancia
DETECTABLE	NO DETECTABLE	NOR	306	306	0	100% (NPA)
DETECTABLE	DETECTABLE	HET	48	48	0	100% (PPA)
NO DETECTABLE	DETECTABLE	MUT	2	2	0	100% (PPA)
TOTALES			356	356	356	100% (OPA)
EVALUACIÓN CLÍNICA - FACTOR II G20210A						
ALELO NORMAL	ALELO MUTADO	GENOTIPO	Nº muestras testeadas	Nº resultados correctos	Nº resultados incorrectos	Porcentaje Concordancia
DETECTABLE	NO DETECTABLE	NOR	327	327	0	100% (NPA)
DETECTABLE	DETECTABLE	HET	29	29	0	100% (PPA)
NO DETECTABLE	DETECTABLE	MUT	0	0	0	100% (PPA)
TOTALES			356	356	356	100% (OPA)

CONCLUSIÓN: Para una cohorte de 356 muestras, el **MultiTarget® THR KIT** demostró una concordancia porcentual general (OPA) del 100,0 % en relación con la secuenciación bidireccional tanto para el Factor V Leiden como para el Factor II G20210A.


Blaq. GERMAN PEREZ
Director Técnico
DETX MOL S.A.


Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETX MOL S.A.

Piso 3, Cabecera Nave 4, Campus Corporativo Coahuila Núcleo
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



TABLA 14. VALIDACIÓN CLÍNICA - DATOS DE ENSAYOS

Muestra ID	[DNA (ng/ul)	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A					FACTOR V LEIDEN						
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT					
				CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC			INTERPRETACIÓN	CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		INTERPRETACIÓN
				(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)			(alelo mutado)	(alelo normal)			
Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn					
MC01938_E	139.8	1.93	HET	24,78	101.160	24,66	58.487	HET	NOR	31,19	26.411	22,62	162.409	NOR
MC01940_E	262.8	1.90	HET	24,48	101.406	24,26	58.173	HET	NOR	29,35	32.953	21,94	176.871	NOR
MC01941_E	224.7	1.92	HET	23,88	128.462	23,84	72.965	HET	NOR	33,27	19.612	22,19	147.398	NOR
MC01942_E	52.9	1.96	HET	28,63	58.267	27,72	47.039	HET	NOR	35,28	19.579	24,31	145.619	NOR
MC01943_E	266.1	1.73	HET	25,05	95.735	24,55	61.452	HET	NOR	30,78	25.555	21,99	163.82	NOR
MC01948_E	139.5	1.89	HET	25,16	84.306	24,56	55.953	HET	NOR	29,30	31.682	22,48	170.554	NOR
MC01949_E	170.1	1.84	NOR	---	---	24,94	70.152	NOR	NOR	---	---	22,54	134.387	NOR
MC01952_E	304.1	1.97	NOR	---	---	23,64	87.547	NOR	NOR	31,99	22.736	21,67	161.131	NOR
MC01953_E	174.3	1.93	NOR	---	---	25,17	72.947	NOR	NOR	31,27	28.219	22,18	171.986	NOR
MC01955_E	303.0	1.87	NOR	---	---	26,83	63.166	NOR	NOR	---	---	22,36	149.361	NOR
MC01957_E	421.2	1.80	NOR	---	---	24,78	58.962	NOR	NOR	31,63	25.460	21,59	156.501	NOR
MC01959_E	181.6	1.91	NOR	---	---	25,85	68.246	NOR	NOR	---	---	23,06	135.177	NOR
MC01964_E	52.8	1.76	NOR	---	---	26,66	63.503	NOR	NOR	---	---	24,54	118.4	NOR
MC01965_E	34.5	1.80	NOR	---	---	27,77	55.636	NOR	HET	27,34	90.783	25,68	105.46	HET
MC01966_E	21.8	1.87	NOR	---	---	27,44	66.862	NOR	HET	27,63	88.875	25,52	92.847	HET
MC01967_E	4.9	1.79	NOR	---	---	29,17	62.247	NOR	HET	29,89	87.192	27,79	94.393	HET
MC01968_E	93.3	1.81	NOR	---	---	29,01	37.666	NOR	HET	27,69	58.967	25,21	66.993	HET
MC01969_E	8.5	1.88	NOR	---	---	28,85	53.004	NOR	NOR	39,69	15.221	25,93	119.85	NOR
MC01970_E	174.9	1.85	NOR	---	---	22,86	87.363	NOR	HET	24,67	93.805	22,87	99.405	HET
MC01972_E	161.7	1.87	NOR	---	---	23,64	93.652	NOR	NOR	---	---	22,98	126.621	NOR
MC01973_E	53.2	1.91	NOR	37,59	11.784	24,62	86.806	NOR	NOR	39,38	15.762	24,65	113.462	NOR
MC01976_E	10.8	1.90	NOR	---	---	27,90	59.443	NOR	HET	28,99	77.840	26,55	93.758	HET
MC01978_E	7.9	1.90	NOR	39,97	10.037	30,53	49.555	NOR	HET	31,50	56.200	29,04	76.585	HET
MC01979_E	13.5	1.84	NOR	---	---	27,95	58.622	NOR	HET	28,88	75.087	26,60	86.343	HET
MC01983_E	7.4	2.05	NOR	---	---	29,58	49.541	NOR	HET	30,57	70.649	27,95	82.749	HET
MC01984_E	256.1	1.90	NOR	---	---	25,41	81.027	NOR	HET	27,19	71.845	24,62	81.717	HET
MC01985_E	116.5	1.90	NOR	32,90	18.031	25,47	100.724	NOR	HET	26,86	105.000	25,25	108.943	HET
MC01986_E	78.0	1.94	NOR	38,80	12.337	23,91	108.951	NOR	HET	26,90	89.403	24,87	99.778	HET
MC01987_E	48.2	1.95	NOR	---	---	27,20	71.583	NOR	HET	28,66	81.364	26,64	81.448	HET
MC01988_E	222.6	1.88	NOR	---	---	24,43	80.908	NOR	HET	26,23	105.168	24,44	112.029	HET
MC01989_E	152.2	1.91	NOR	32,53	16.333	25,64	90.021	NOR	HET	28,32	73.091	25,55	96.11	HET
MC01990_E	4.0	1.90	NOR	---	---	30,21	56.567	NOR	HET	32,81	58.497	30,55	64.949	HET

Dr. DIEGO CHOUPIRY
 Apoderado
 DETX MOL S.A.
 Dr. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETX MOL S.A.

Piso 5, Cabecera Nave 4, Campus Corporativo Cooperativo Núcleo
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A					FACTOR V LEIDEN						
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT					
				CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN			CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN			
Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn			
MC01991_E	121.6	1.94	NOR	---	---	25,98	59.977	NOR	HET	26,76	92.725	24,81	93.877	HET
MC01992_E	55.3	1.98	NOR	---	---	25,11	94.671	NOR	HET	26,46	104.241	24,99	110.846	HET
MC01993_E	17.3	1.96	NOR	---	---	27,18	67.310	NOR	HET	29,55	74.145	27,18	83.774	HET
MC01994_E	113.3	1.92	NOR	---	---	25,76	74.103	NOR	HET	26,89	88.282	24,49	109.286	HET
MC01995_E	134.1	1.90	NOR	36,46	12.965	26,18	71.816	NOR	HET	27,99	71.298	25,28	93.316	HET
MC01998_E	179.1	1.95	NOR	36,42	13.943	24,81	78.140	NOR	HET	26,39	73.639	23,78	99.197	HET
MC01999_E	156.1	1.90	NOR	38,82	10.742	23,64	86.347	NOR	HET	24,93	98.940	23,32	101.804	HET
MC02000_E	162.5	1.96	NOR	---	---	23,54	84.558	NOR	HET	26,02	72.132	23,66	86.939	HET
MC02001_E	299.3	1.89	NOR	38,36	12.209	24,79	71.041	NOR	NOR	38,99	16.056	22,06	142.751	NOR
MC02002_E	335.3	1.93	NOR	---	---	25,87	66.039	NOR	NOR	---	---	22,97	136.079	NOR
MC02004_E	399.6	1.86	NOR	---	---	24,74	84.918	NOR	NOR	34,98	17.88	22,29	137.138	NOR
MC02005_E	175.6	2.08	NOR	37,61	11.940	24,82	73.930	NOR	NOR	---	---	22,86	130.101	NOR
MC02006_E	156.9	1.95	NOR	34,84	16.670	24,95	83.927	NOR	NOR	31,56	22.149	21,76	143.075	NOR
MC02007_E	224.0	1.98	NOR	38,69	11.959	25,17	75.148	NOR	NOR	32,02	23.279	22,35	135.92	NOR
MC02009_E	248.2	1.99	NOR	---	---	28,61	57.122	NOR	NOR	---	---	23,88	119.458	NOR
MC02010_E	723.2	1.73	NOR	---	---	28,70	49.381	NOR	NOR	---	---	23,80	111.015	NOR
MC02011_E	312.4	1.92	NOR	35,78	14.165	25,30	80.804	NOR	NOR	---	---	23,04	111.172	NOR
MC02012_E	308.4	1.79	NOR	33,37	18.454	24,44	93.829	NOR	NOR	34,62	19.12	22,17	130.953	NOR
MC02013_E	333.4	1.68	NOR	---	---	25,09	79.880	NOR	NOR	---	---	23,37	119.769	NOR
MC02015_E	248.8	1.93	NOR	---	---	25,71	73.645	NOR	NOR	35,38	18.428	22,81	127.61	NOR
MC02016_E	245.3	1.95	NOR	38,93	11.559	26,52	54.289	NOR	NOR	37,82	17.126	22,71	124.571	NOR
MC02017_E	115.1	2.01	NOR	---	---	29,34	45.069	NOR	NOR	---	---	23,36	114.243	NOR
MC02018_E	195.5	1.91	NOR	---	---	26,42	57.265	NOR	NOR	32,23	25.338	22,80	137.869	NOR
MC02019_E	138.8	1.96	NOR	---	---	24,15	76.268	NOR	HET	25,12	90.850	23,52	103.445	HET
MC02020_E	185.0	1.94	NOR	38,92	11.100	26,31	71.237	NOR	NOR	33,79	20.080	22,20	142.988	NOR
MC02021_E	241.6	1.93	NOR	---	---	25,90	65.199	NOR	NOR	30,52	28.568	22,16	144.802	NOR
MC02022_E	605.0	1.84	NOR	---	---	26,96	59.270	NOR	NOR	29,73	32.380	22,22	138.952	NOR
MC02023_E	215.4	1.83	NOR	---	---	26,74	53.601	NOR	NOR	31,78	26.208	22,63	129.798	NOR
MC02024_E	266.2	1.95	NOR	---	---	25,76	63.809	NOR	NOR	29,68	33.513	21,32	156.447	NOR
MC02025_E	84.0	1.93	NOR	39,69	10.460	28,60	47.736	NOR	NOR	---	---	24,08	108.889	NOR
MC02026_E	351.9	1.91	HET	24,23	96.142	23,89	58.389	HET	NOR	30,04	28.910	22,13	151.373	NOR
MC02027_E	230.4	1.91	NOR	---	---	26,53	59.965	NOR	NOR	---	---	23,43	113.194	NOR
MC02028_E	154.6	1.98	HET	29,07	53.199	28,55	38.813	HET	NOR	---	---	23,30	100.702	NOR


Dr. DIEGO CHOQUHY
 Apoderado de
 DETx MOL S.A.


Bloq. GERMAN PEREZ
 Director de
 DETx MOL S.A.



Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A						FACTOR V LEIDEN					
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN	Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN
				CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)				CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		
				Ct	ΔRn	Ct	ΔRn			Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	
MC02029_E	203.2	1.96	NOR	---	---	25,46	62.971	NOR	NOR	30,92	27.404	21,62	149.546	NOR
MC02030_E	297.8	1.93	NOR	38,94	11.260	26,32	61.951	NOR	MUT	24,49	148.24	---	---	MUT
MC02031_E	238.8	1.69	NOR	---	---	26,07	64.744	NOR	NOR	34,89	18.709	22,79	113.139	NOR
MC02032_E	361.6	1.73	NOR	35,59	15.204	28,33	58.233	NOR	NOR	---	---	23,20	99.047	NOR
MC02033_E	190.1	1.88	NOR	---	---	27,81	57.691	NOR	HET	26,62	66.425	23,97	79.815	HET
MC02034_E	34.9	2.00	NOR	---	---	28,18	59.317	NOR	NOR	---	---	26,71	120.592	NOR
MC02036_E1	26,9	1,75	NOR	---	---	28,01	62.735	NOR	NOR	---	---	26,41	101.597	NOR
MC02038_E1	138.2	1.85	NOR	---	---	23,19	73.682	NOR	NOR	---	---	22,57	119.251	NOR
MC02040_E1	7,9	1,78	NOR	---	---	30,54	48.702	NOR	NOR	---	---	27,53	104.14	NOR
MC02042_E1	65.7	1.88	NOR	---	---	24,12	86.735	NOR	NOR	30,53	28.336	23,27	163.493	NOR
MC02046_E1	32	1,96	HET	31,43	42.352	30,67	37.516	HET	HET	32,53	37.463	28,79	64.296	HET
MC02048_E1	19,4	1,75	NOR	---	---	27,88	55.944	NOR	NOR	38,77	15.912	25,40	133.474	NOR
MC02050_E1	70.2	1.85	NOR	---	---	26,04	66.262	NOR	NOR	33,78	22.914	23,94	126.731	NOR
MC02054_E1	8.3	1.80	NOR	---	---	30,96	44.191	NOR	NOR	37,73	17.086	28,01	102.53	NOR
MC02057_E1	6,3	1,44	NOR	---	---	29,89	62.732	NOR	NOR	---	---	27,92	128.888	NOR
MC02060_E1	9	1,78	NOR	36,48	13.856	29,16	73.708	NOR	NOR	35,49	21.345	26,98	143.759	NOR
MC02063_E1	9,3	1,53	HET	35,17	32.497	34,09	26.837	HET	NOR	38,03	17.915	29,36	113.584	NOR
MC02066_E1	14.0	02.01	NOR	---	---	27,44	63.288	NOR	NOR	38,44	16.178	26,30	101.134	NOR
MC02068_E1	2,5	1,48	NOR	38,43	12.485	32,02	57.526	NOR	NOR	---	---	30,84	91.664	NOR
MC02072_E1	14,6	1,81	HET	31,30	48.311	30,86	38.601	HET	NOR	35,86	22.853	27,14	126.911	NOR
MC02074_E1	5,2	1,47	NOR	---	---	31,97	45.842	NOR	NOR	---	---	30,80	81.053	NOR
MC02076_E1	15,3	1,82	NOR	---	---	31,52	38.195	NOR	NOR	---	---	28,54	85.667	NOR
MC02078_E1	17,2	1,94	NOR	---	---	27,72	66.240	NOR	NOR	---	---	27,48	114.983	NOR
MC02080_E1	6,4	1,7	NOR	---	---	30,57	54.350	NOR	NOR	---	---	28,54	97.194	NOR
MC02082_E1	6,6	1,54	NOR	---	---	33,83	33.366	NOR	NOR	---	---	31,51	70.388	NOR
MC02084_E1	6,8	1,67	NOR	---	---	30,94	60.868	NOR	NOR	37,14	18.885	28,84	117.092	NOR
MC02086_E1	9,7	1,81	NOR	33,07	18.227	28,83	83.353	NOR	HET	31,59	74.088	29,53	79.245	HET
MC02088_E1	5,6	1,69	NOR	---	---	27,68	80.441	NOR	NOR	39,35	16.008	26,31	119.942	NOR
MC02090_E1	14,2	1,51	NOR	38,38	12.155	26,96	94.793	NOR	NOR	---	---	26,40	89.903	NOR
MC02092_E1	29,7	1,82	NOR	---	---	26,78	81.719	NOR	NOR	---	---	24,54	117.701	NOR
MC02094_E1	23,3	1,85	NOR	---	---	26,48	74.372	NOR	NOR	---	---	25,76	119.589	NOR
MC02096_E1	45,8	1,86	NOR	---	---	27,12	59.504	NOR	NOR	---	---	25,62	112.827	NOR
MC02098_E1	125,5	1,85	NOR	---	---	26,62	56.953	NOR	NOR	---	---	25,11	98.327	NOR


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETX MOL S.A.


GERMÁN PÉREZ
 Director Técnico



Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280
MC02100_E1	263.9	1.87
MC02102_E1	82.6	1.89
MC02104_E1	60.9	1.84
MC02108_E1	55.5	1.88
MC02110_E1	15.6	1.79
MC02112_E1	21.4	1.88
MC02114_E1	69.2	1.89
MC02116_E1	35.9	1.89
MC02118_E1	60.0	1.85
MC02122_E1	97.0	1.85
MC02124_E1	24.8	1.81
MC02126_E1	2.1	1.56
MC02128_E1	119.8	1.85
MC02130_E1	203.7	1.87
MC02132_E1	52.9	1.87
MC02134_E1	22.2	1.83
MC02136_E1	53.0	1.87
MC02138_E1	25.4	1.86
MC02140_E1	3.6	1.6
MC02142_E1	125.3	1.87
MC02144_E1	12.2	1.86
MC02146_E1	146.2	1.87
MC02148_E1	99.4	1.84
MC02152_E1	8.2	1.75
MC02154_E1	15.5	1.85
MC02156_E1	61.1	1.86
MC02158_E1	227.6	1.85
MC02160_E1	83.3	1.86
MC02162_E1	77.1	1.87
MC02164_E1	27.7	1.88
MC02168_E1	8.9	1.87
MC02170_E1	14.1	1.82
MC02174_E1	3.1	1.78

Secuenciación Sanger	FACTOR II G20210A							
	MultiTarget® THR KIT							
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN			
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn				
NOR	---	---	25,00	60.355	NOR			
HET	27,66	70.453	26,97	52.273	HET			
NOR	---	---	26,39	62.020	NOR			
NOR	---	---	24,31	84.975	NOR			
NOR	---	---	29,21	47.522	NOR			
NOR	---	---	27,24	65.822	NOR			
NOR	---	---	24,45	78.262	NOR			
NOR	---	---	27,86	55.568	NOR			
NOR	---	---	24,51	59.563	NOR			
NOR	39,95	10.048	25,23	64.527	NOR			
NOR	38,87	11.338	27,27	65.390	NOR			
NOR	---	---	29,52	62.109	NOR			
NOR	---	---	24,01	90.636	NOR			
NOR	31,61	19.761	24,23	98.568	NOR			
NOR	---	---	26,45	64.983	NOR			
NOR	---	---	26,00	72.421	NOR			
NOR	---	---	25,14	68.950	NOR			
NOR	32,68	17.619	25,57	101.023	NOR			
NOR	---	---	28,55	68.643	NOR			
NOR	---	---	25,08	68.499	NOR			
NOR	---	---	26,38	77.432	NOR			
NOR	---	---	24,25	93.085	NOR			
NOR	---	---	23,51	86.632	NOR			
NOR	---	---	27,64	78.070	NOR			
NOR	---	---	27,51	56.531	NOR			
NOR	---	---	24,29	92.740	NOR			
NOR	---	---	24,08	75.902	NOR			
NOR	---	---	24,11	89.190	NOR			
NOR	38,20	11.762	26,33	82.518	NOR			
HET	27,73	72.989	27,23	51.032	HET			
NOR	37,32	13.404	27,94	59.513	NOR			
NOR	---	---	27,27	66.869	NOR			
HET	31,02	52.255	30,14	40.122	HET			

Secuenciación Sanger	FACTOR V LEIDEN							
	MultiTarget® THR KIT							
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN			
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn				
NOR	30,41	32.170	22,79	135.393	NOR			
NOR	35,37	21.512	24,85	133.076	NOR			
NOR	---	---	24,63	122.674	NOR			
NOR	39,74	15.105	24,02	131.124	NOR			
NOR	---	---	26,39	99.318	NOR			
NOR	---	---	26,19	111.746	NOR			
NOR	---	---	24,21	121.528	NOR			
NOR	37,28	17.584	24,76	128.757	NOR			
NOR	---	---	23,17	125.51	NOR			
NOR	---	---	24,45	125.028	NOR			
NOR	36,85	18.087	25,99	125.026	NOR			
HET	36,37	26.736	32,13	45.017	HET			
NOR	---	14.467	23,61	145.225	NOR			
NOR	30,05	30.404	22,40	183.29	NOR			
NOR	33,54	24.208	24,89	122.572	NOR			
NOR	---	---	24,65	133.661	NOR			
NOR	---	---	24,10	124.68	NOR			
HET	27,18	109.998	25,78	117.448	HET			
NOR	37,67	17.166	26,75	115.981	NOR			
NOR	---	---	24,74	112.688	NOR			
NOR	---	---	26,04	129.645	NOR			
NOR	---	---	24,04	108.02	NOR			
NOR	---	---	23,26	132.017	NOR			
NOR	37,06	17.372	26,16	128.579	NOR			
HET	30,59	52.695	27,98	67.321	HET			
NOR	33,21	22.234	23,55	150.595	NOR			
NOR	38,27	15.766	23,30	119.532	NOR			
NOR	---	---	22,92	149.523	NOR			
NOR	36,51	19.814	26,82	109.064	NOR			
NOR	---	---	25,26	121.716	NOR			
NOR	35,38	21.051	26,16	115.777	NOR			
NOR	---	---	26,50	111.535	NOR			
NOR	36,38	18.97	27,42	127.503	NOR			


DR. DIEGO CHOUHARY
 Apoderado por
 DETx MOL S.A.
 DETx MOL S.A.


 Director Técnico
 DETx MOL S.A.
 DETx MOL S.A.

Bloq. C-301 - N.º 1111
 PISO 3º - S.A. - para Nave 4, Campus Corporativo Cooperativo Núcleo
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A						FACTOR V LEIDEN					
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN	Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN
				CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)				CANA FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		
				Ct	ΔRn	Ct	ΔRn			Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	
MC02178_E1	41.5	1.87	NOR	39,40	10.945	25,10	74.083	NOR	NOR	36,39	18.436	25,25	125.589	NOR
MC02180_E1	47.1	1.86	NOR	---	---	25,37	77.801	NOR	NOR	35,32	21.016	24,83	107.005	NOR
MC02182_E1	212.3	1.86	NOR	---	---	25,06	65.317	NOR	NOR	39,46	15.796	23,81	98.588	NOR
MC02184_E1	35.6	1.85	HET	29,24	49.386	28,42	40.596	HET	NOR	---	---	26,13	102.64	NOR
MC02186_E1	65.3	1.89	NOR	---	---	26,20	81.824	NOR	NOR	33,96	23.797	25,06	153.75	NOR
MC02188_E1	32.4	1.85	NOR	---	---	27,92	61.851	NOR	NOR	---	---	25,31	125.434	NOR
MC02190_E1	29.8	1.83	NOR	33,17	18.623	24,78	93.447	NOR	NOR	33,29	21.368	22,90	139.432	NOR
MC02192_E1	8,3	1,68	NOR	---	---	27,80	70.501	NOR	NOR	39,14	16.303	26,34	111.711	NOR
MC02194_E1	54.5	1.88	NOR	---	---	27,31	65.189	NOR	NOR	33,63	23.037	24,37	136.767	NOR
MC02196_E1	23.1	1.87	NOR	35,71	14.283	25,85	92.582	NOR	NOR	34,53	21.726	25,01	149.703	NOR
MC02198_E1	93.4	1.82	NOR	---	---	24,41	87.387	NOR	NOR	35,55	18.847	23,96	135.898	NOR
MC02200_E1	33.0	1.87	NOR	---	---	27,18	66.857	NOR	NOR	35,62	19.626	24,51	135.41	NOR
MC02202_E1	6,4	1,89	NOR	---	---	31,31	47.433	NOR	NOR	---	---	30,03	78.307	NOR
MC02206_E1	261.2	1.86	NOR	38,88	11.008	23,91	88.841	NOR	NOR	---	---	23,46	139.912	NOR
MC02208_E1	61.9	1.87	NOR	---	---	25,96	65.192	NOR	NOR	37,05	17.715	24,18	118.34	NOR
MC02210_E1	132.0	1.86	NOR	---	---	27,86	57.935	NOR	NOR	39,60	15.416	24,97	138.095	NOR
MC02212_E1	10,3	1,58	NOR	---	---	27,28	72.967	NOR	NOR	---	---	26,57	108.256	NOR
MC02214_E1	91.3	1.85	NOR	38,58	11.640	26,98	59.418	NOR	NOR	35,43	19.662	24,63	110.983	NOR
MC02216_E1	48.1	1.87	NOR	38,08	11.341	28,97	48.743	NOR	NOR	39,87	15.076	25,93	106.837	NOR
MC02218_E1	41.1	1.87	NOR	---	---	27,20	54.691	NOR	NOR	---	---	25,56	103.177	NOR
MC02220_E1	40.0	1.87	NOR	---	---	25,00	84.801	NOR	HET	27,51	83.796	25,54	96.787	HET
MC02222_E1	79.4	1.87	NOR	---	---	27,95	51.377	NOR	NOR	---	---	24,81	96.909	NOR
MC02224_E1	15,9	1,78	HET	30,11	47.553	29,38	40.076	HET	NOR	35,79	19.141	26,95	86.095	NOR
MC02450_E	46.7	1.91	NOR	---	---	25,72	72.921	NOR	NOR	---	---	24,49	127.792	NOR
MC02451_E	5.5	1.86	NOR	---	---	27,22	78.900	NOR	NOR	---	---	27,43	93.858	NOR
MC02452_E	39.4	1.90	NOR	---	---	24,93	82.394	NOR	NOR	38,14	16.744	24,84	115.895	NOR
MC02453_E	18.3	1.85	NOR	---	---	29,11	59.262	NOR	NOR	---	---	27,86	103.607	NOR
MC02454_E	43.7	1.91	NOR	---	---	27,07	72.304	NOR	HET	27,74	82.289	25,54	90.893	HET
MC02455_E	54.9	1.91	NOR	---	---	27,48	62.445	NOR	NOR	---	---	25,37	115.179	NOR
MC02457_E	311.8	1.93	NOR	34,39	15.655	24,05	99.188	NOR	NOR	29,19	33.561	21,62	189.382	NOR
MC02458_E	222.7	1.93	NOR	---	---	25,30	75.701	NOR	NOR	32,34	21.518	22,36	143.44	NOR
MC02460_E	67.4	1.92	NOR	---	---	26,24	74.889	NOR	NOR	34,14	21.511	24,64	124.891	NOR
MC02461_E	138,5	1,93	NOR	---	---	24,41	78.383	NOR	NOR	36,33	17.640	23,46	117.823	NOR

[Signature]
Dr. DIEGO CHOUBY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

[Signature]
BIOG. GERMAN PEREZ
 Director
 DETx MOL S.A.



Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A						FACTOR V LEIDEN					
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN	Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN
				CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN			CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN	
Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct		ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn		
MC02462_E	231.6	1.93	NOR	39,22	10.650	24,40	86.155	NOR	NOR	32,13	19.67	21,94	140.332	NOR
MC02463_E	348.4	1.81	NOR	---	---	24,99	69.654	NOR	NOR	39,46	15.622	22,35	112.744	NOR
MC02464_E	301.4	1.88	NOR	---	---	24,89	65.030	NOR	NOR	34,92	19.605	22,16	129.078	NOR
MC02465_E	302.1	1.85	NOR	36,26	12.725	24,18	84.752	NOR	NOR	---	---	22,72	113.982	NOR
MC02466_E	212.5	1.92	NOR	---	---	24,89	75.550	NOR	NOR	30,40	26.070	21,62	135.177	NOR
MC02467_E	119.2	1.92	NOR	37,31	12.543	23,84	92.616	NOR	HET	24,86	112.529	22,45	105.811	HET
MC02468_E	195.8	1.94	NOR	39,97	10.024	23,63	96.135	NOR	NOR	35,51	17.381	22,45	132.089	NOR
MC02469_E	59.7	1.95	NOR	39,16	10.740	25,63	76.190	NOR	HET	27,48	71.743	24,94	80.948	HET
MC02470_E	348.9	1.90	NOR	---	---	24,71	74.353	NOR	NOR	29,43	32.573	21,86	146.988	NOR
MC02471_E	439.4	1.96	NOR	35,69	15.850	24,07	86.476	NOR	NOR	33,87	20.579	21,81	128.372	NOR
MC02472_E	218.2	1.89	NOR	39,82	10.275	27,06	55.346	NOR	NOR	---	---	23,09	106.257	NOR
MC02473_E	46.4	1.94	NOR	---	---	27,50	58.266	NOR	HET	28,69	64.966	26,27	79.216	HET
MC02474_E	20.7	1.91	NOR	---	---	26,80	66.492	NOR	HET	31,01	51.067	28,25	71.621	HET
MC02475_E	127.8	1.90	NOR	---	---	25,54	63.636	NOR	NOR	38,71	16.001	24,37	123.467	NOR
MC02476_E	115.3	1.87	NOR	---	---	24,71	74.043	NOR	NOR	31,49	27.432	23,17	140.397	NOR
MC02477_E	119.7	1.89	NOR	---	---	25,66	63.000	NOR	NOR	---	---	23,50	118.927	NOR
MC02478_E	41.1	1.85	NOR	35,95	13.050	26,30	70.854	NOR	NOR	34,92	27.156	24,80	133.037	NOR
MC02479_E	161.1	1.86	NOR	---	---	24,03	73.354	NOR	NOR	35,40	17.074	22,79	125.284	NOR
MC02480_E	84.2	1.89	NOR	39,17	11.150	25,11	71.337	NOR	NOR	---	---	23,07	143.438	NOR
MC02481_E	226.8	1.87	HET	26,47	72.094	25,43	59.592	HET	NOR	---	---	22,25	127.411	NOR
MC02483_E	102.7	1.87	NOR	---	---	24,90	85.322	NOR	NOR	33,42	21.037	22,61	163.307	NOR
MC02484_E	274.3	1.87	NOR	---	---	24,25	91.881	NOR	NOR	37,45	16.869	22,28	158.236	NOR
MC02485_E	303.3	1.87	NOR	38,52	11.637	23,97	105.015	NOR	NOR	31,41	25.738	22,10	152.105	NOR
MC02486_E	145.7	1.86	NOR	---	---	24,23	86.059	NOR	NOR	32,93	24.092	22,44	153.24	NOR
MC02487_E	85.0	1.89	NOR	39,35	10.569	24,20	93.883	NOR	NOR	---	---	22,99	133.482	NOR
MC02488_E	153.0	1.86	NOR	---	---	24,02	88.579	NOR	NOR	32,82	22.234	22,15	159.959	NOR
MC02489_E	101.8	1.88	NOR	---	---	26,46	60.839	NOR	NOR	---	---	23,35	141.062	NOR
MC02490_E	248.4	1.87	NOR	---	---	24,75	75.476	NOR	NOR	---	---	22,99	138.002	NOR
MC02491_E	404.1	1.89	NOR	---	---	24,07	78.622	NOR	NOR	32,12	23.223	22,36	157.15	NOR
MC02492_E	525.6	1.85	NOR	---	---	24,73	67.116	NOR	HET	25,67	88.516	23,59	96.666	HET
MC02493_E	370.9	1.89	NOR	---	---	23,72	73.809	NOR	NOR	31,26	24.366	21,89	159.766	NOR
MC02494_E	406.4	1.86	NOR	---	---	24,53	76.724	NOR	NOR	32,23	22.905	22,53	144.017	NOR
MC02495_E	703.2	1.92	NOR	38,12	12.460	24,42	83.691	NOR	NOR	34,87	18.649	22,53	132.628	NOR


Dr. DIEGO CHINI
 Apoderado de
 DETx MOL S.A.


 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A						FACTOR V LEIDEN					
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN	Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN
				CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN			CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN	
Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct		ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn		
MC02496_E	509.3	1.92	NOR	---	---	24,88	76.079	NOR	NOR	32,45	24.066	22,20	155.334	NOR
MC02497_E	270.4	1.91	NOR	---	---	25,18	85.059	NOR	NOR	---	---	22,75	146.031	NOR
MC02498_E	239.6	1.88	NOR	---	---	25,13	75.216	NOR	NOR	---	---	22,87	129.834	NOR
MC02500_E	189.3	1.95	NOR	35,53	13.504	24,75	90.323	NOR	NOR	33,56	20.146	22,46	147.557	NOR
MC02501_E	75.2	1,94	NOR	39,73	10.434	27,66	56.775	NOR	NOR	---	---	25,26	104.774	NOR
MC02502_E	68,2	1,91	NOR	---	---	28,08	54.015	NOR	NOR	---	---	24,94	91.728	NOR
MC02503_E	98,8	1,9	NOR	---	---	26,12	59.164	NOR	NOR	39,26	16.522	23,92	127.471	NOR
MC02504_E	180.4	1.77	NOR	---	---	24,45	89.966	NOR	NOR	34,18	18.044	22,47	146.05	NOR
MC02505_E	321.9	1.95	NOR	38,01	12.766	23,12	97.548	NOR	NOR	30,69	27.073	21,92	159.214	NOR
MC02506_E	72,1	1,93	NOR	---	---	26,98	55.887	NOR	NOR	39,92	15.057	24,83	104.418	NOR
MC02507_E	419.9	1.89	NOR	39,11	10.846	23,03	93.090	NOR	NOR	31,02	24.748	21,56	142.011	NOR
MC02508_E	245.5	1.86	NOR	---	---	23,03	92.506	NOR	NOR	31,38	24.160	22,04	129.861	NOR
MC02510_E	260.0	1.83	NOR	32,81	17.131	23,96	100.724	NOR	NOR	31,44	27.082	22,54	134.413	NOR
MC02946_E	43,1	1,99	HET	27,60	78.194	27,48	50.461	HET	NOR	36,48	18.837	24,42	118.371	NOR
MC02947_E	68,1	1,87	NOR	---	---	26,79	85.013	NOR	NOR	---	---	25,43	112.271	NOR
MC02949_E	151.8	1.94	NOR	38,98	11.009	24,82	83.335	NOR	NOR	32,62	21.742	23,74	135.3	NOR
MC02952_E	70.8	1.99	NOR	---	---	24,48	91.092	NOR	NOR	31,27	28.404	23,60	157.627	NOR
MC02953_E	98.9	02.01	NOR	33,21	15.733	24,10	83.514	NOR	NOR	33,74	21.517	23,11	160.194	NOR
MC02955_E	118.4	1.93	NOR	---	---	26,89	70.604	NOR	NOR	39,09	16.93	24,52	123.612	NOR
MC02959_E	116.8	1.95	NOR	34,59	14.28	26,19	74.739	NOR	NOR	---	---	24,50	118.302	NOR
MC02960_E	95.1	1.94	NOR	---	---	26,21	65.764	NOR	NOR	---	---	23,71	124.148	NOR
MC02963_E	93.6	1.95	NOR	38,19	12.205	26,49	82.191	NOR	NOR	---	---	24,84	107.27	NOR
MC02964_E	44.6	2.01	NOR	33,15	17.535	26,33	88.629	NOR	NOR	38,22	16.473	24,67	127.754	NOR
MC02966_E	53.4	1.98	HET	27,69	65.175	27,17	45.241	HET	NOR	36,87	17.765	24,45	136.531	NOR
MC02967_E	534.3	1.57	HET	24,66	109.301	24,70	65.924	HET	NOR	32,77	24.030	23,18	145.218	NOR
MC02968_E	86.5	1.96	HET	26,05	103.189	25,96	66.498	HET	NOR	---	---	24,19	137.038	NOR
MC02969_E	126.1	1.91	HET	28,10	59.160	27,11	46.908	HET	NOR	38,25	16.879	24,19	143.038	NOR
MC02972_E	66.7	1.99	NOR	---	---	24,19	81.233	NOR	HET	24,85	116.275	23,23	118.174	HET
MC03140_E1	42.7	1.87	NOR	---	---	26,07	78.501	NOR	NOR	34,75	20.638	23,83	132.135	NOR
MC03141_E1	14.6	1.81	NOR	---	---	27,87	67.671	NOR	NOR	---	---	24,95	134.622	NOR
MC03142_E1	70.0	1.83	NOR	---	---	27,79	53.847	NOR	NOR	38,75	16.080	24,98	109.075	NOR
MC03143_E1	78.6	1.84	NOR	---	---	28,71	55.925	NOR	NOR	---	---	25,43	109.038	NOR
MC03144_E1	206.7	1.83	NOR	39,58	10.394	24,35	71.419	NOR	NOR	36,38	18.942	22,90	122.284	NOR


Dr. DIEGO CHQUI
 Apoderado
 DETx MOL S.A.



Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A						FACTOR V LEIDEN					
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN	Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN
				CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)				CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		
Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn			
MC03145_E1	32.0	1.85	NOR	---	---	28,91	53.732	NOR	NOR	---	---	25,66	119.215	NOR
MC03146_E1	37.9	1.88	NOR	---	---	28,26	52.403	NOR	NOR	---	---	25,52	100.498	NOR
MC03147_E1	42.6	1.87	NOR	---	---	26,15	75.141	NOR	NOR	35,71	18.775	23,76	133.296	NOR
MC03149_E1	51.6	1.85	NOR	---	---	26,45	62.633	NOR	NOR	32,85	24.999	24,36	136.711	NOR
MC03150_E1	147.8	1.85	NOR	---	---	26,50	66.143	NOR	NOR	---	---	23,86	122.929	NOR
MC03151_E1	25.3	1.83	NOR	---	---	24,95	80.575	NOR	NOR	29,70	34.148	24,41	138.476	NOR
MC03152_E1	183.5	1.86	NOR	38,85	11.191	24,52	84.874	NOR	NOR	34,49	20.492	23,50	145.883	NOR
MC03153_E1	78.6	1.83	NOR	38,63	11.419	26,25	72.156	NOR	NOR	36,02	19.289	23,69	136.484	NOR
MC03154_E1	59.7	1.85	NOR	---	---	27,09	62.306	NOR	NOR	---	---	24,08	119.163	NOR
MC03155_E1	95.0	1.88	NOR	---	---	25,43	82.555	NOR	NOR	36,11	18.077	24,30	141.679	NOR
MC03156_E1	138.9	1.85	NOR	---	---	26,44	58.814	NOR	NOR	---	---	23,12	129.258	NOR
MC03157_E1	228.3	1.85	NOR	---	---	24,52	72.486	NOR	NOR	31,51	26.435	22,73	151.422	NOR
MC03158_E1	59.7	1.85	NOR	---	---	27,33	56.025	NOR	NOR	---	---	24,73	104.733	NOR
MC03159_E1	26.1	1.88	NOR	---	---	28,30	53.879	NOR	NOR	34,98	20.283	25,30	130.181	NOR
MC03160_E1	51.3	1.87	NOR	---	---	26,18	81.698	NOR	NOR	38,08	16.156	24,07	136.354	NOR
MC03161_E1	68.4	1.86	NOR	---	---	25,03	81.960	NOR	NOR	30,93	27.914	22,75	169.405	NOR
MC03162_E1	89.8	1.84	NOR	---	---	25,54	75.725	NOR	NOR	30,69	28.958	23,04	154.938	NOR
MC03163_E1	169.2	1.85	NOR	---	---	24,73	64.098	NOR	NOR	33,62	22.381	22,56	128.914	NOR
MC03164_E1	26.7	1.85	NOR	---	---	26,34	75.248	NOR	NOR	33,22	24.065	24,39	152.947	NOR
MC03165_E1	66.2	1.87	NOR	---	---	24,61	82.518	NOR	NOR	30,45	31.825	23,54	138.39	NOR
MC03166_E1	25.1	1.84	HET	29,19	52.108	28,63	41.246	HET	NOR	---	---	24,89	107.993	NOR
MC03167_E1	57.8	1.86	NOR	---	---	27,92	55.033	NOR	NOR	---	---	24,85	101.259	NOR
MC03168_E1	52.9	1.85	NOR	---	---	27,92	56.598	NOR	NOR	---	---	24,90	101.359	NOR
MC03169_E1	60.2	1.87	NOR	---	---	26,38	69.561	NOR	NOR	---	---	24,39	119.003	NOR
MC03170_E1	18.8	1.82	NOR	---	---	25,84	85.878	NOR	NOR	37,21	17.901	24,86	134.92	NOR
MC03171_E1	88.0	1.89	NOR	---	---	26,06	72.548	NOR	NOR	35,75	17.912	24,86	134.92	NOR
MC03172_E1	8.2	1.55	NOR	---	---	29,06	50.833	NOR	NOR	---	---	24,14	120.729	NOR
MC03173_E1	60.2	1.92	NOR	38,69	11.042	26,33	72.670	NOR	HET	30,74	45.034	27,17	72.067	HET
MC03174_E1	26.9	1.94	NOR	---	---	27,27	68.607	NOR	NOR	---	---	24,67	100.838	NOR
MC03175_E1	80.9	1.89	NOR	---	---	26,73	62.405	NOR	NOR	---	---	25,17	95.924	NOR
MC03177_E1	33.0	1.95	NOR	38,97	11.296	26,73	62.405	NOR	HET	29,36	52.677	26,11	79.955	HET
MC03178_E1	110.6	1.88	NOR	39,63	10.361	28,57	60.926	NOR	NOR	---	---	25,44	114.772	NOR
MC03179_E1	48.9	1.93	NOR	---	---	27,72	55.693	NOR	NOR	---	---	24,87	99.705	NOR
			NOR	---	---	27,57	69.438	NOR	NOR	38,30	16.314	24,99	129.112	NOR


DR. DIEGO CHOUHUY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Gerardo Pérez
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A					FACTOR V LEIDEN						
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT					
				CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN		CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN		
					Ct	ΔRn				Ct	ΔRn		Ct	ΔRn
MC03180_E1	52.0	1.92	NOR	36,49	13.265	27,55	75.790	NOR	NOR	---	---	25,39	113.613	NOR
MC03181_E1	89.1	1.90	NOR	---	---	26,51	68.824	NOR	NOR	---	---	24,42	121.132	NOR
MC03182_E1	92.4	1.89	NOR	35,87	13.165	25,51	87.326	NOR	NOR	---	---	24,51	104.474	NOR
MC03183_E1	31.8	1.97	NOR	---	---	27,90	63.461	NOR	NOR	38,55	16.031	26,00	112.377	NOR
MC03184_E1	61.8	1.88	HET	30,14	41.584	28,84	37.973	HET	NOR	---	---	25,21	102.646	NOR
MC03185_E1	61.3	1.91	NOR	39,12	11.010	28,63	58.350	NOR	NOR	---	---	26,18	101.085	NOR
MC03186_E1	97.8	1.88	NOR	---	---	27,57	57.042	NOR	NOR	---	---	25,12	104.526	NOR
MC03190_E1	42.9	1.95	NOR	---	---	29,27	61.025	NOR	NOR	35,60	20.330	25,72	123.245	NOR
MC03191_E1	115.0	1.88	NOR	35,48	14.444	26,18	73.882	NOR	NOR	---	---	24,00	118.428	NOR
MC03192_E1	45.0	1.95	NOR	---	---	27,62	63.455	NOR	NOR	39,13	15.755	25,28	104.785	NOR
MC03193_E1	26.1	2.01	NOR	---	---	28,32	73.131	NOR	NOR	---	---	26,70	91.62	NOR
MC03194_E1	82.6	1.86	NOR	---	---	27,28	62.425	NOR	NOR	39,38	15.479	24,95	106.194	NOR
MC03195_E1	68.0	1.90	NOR	37,67	12.841	28,96	48.644	NOR	NOR	---	---	25,41	109.512	NOR
MC03196_E1	47.8	1.93	NOR	---	---	28,79	58.221	NOR	NOR	---	---	25,93	120.996	NOR
MC03197_E1	32.8	1.92	NOR	---	---	28,96	55.697	NOR	NOR	---	---	26,06	113.165	NOR
MC03198_E1	99.5	1.87	NOR	---	---	27,02	57.607	NOR	NOR	---	---	24,28	113.167	NOR
MC03199_E1	71.4	1.90	NOR	---	---	27,63	59.445	NOR	NOR	39,46	15.585	24,94	120.095	NOR
MC03200_E1	50.8	1.93	HET	29,97	49.328	28,74	43.638	HET	NOR	---	---	25,03	116.035	NOR
MC03222_E1	10.4	1.57	NOR	---	---	28,62	64.277	NOR	NOR	---	---	26,84	116.523	NOR
MC03223_E1	62.3	1.90	NOR	---	---	26,35	72.621	NOR	NOR	39,48	15.452	24,33	121.953	NOR
MC03224_E1	47.4	1.86	NOR	---	---	27,14	56.154	NOR	NOR	---	---	25,08	99.774	NOR
MC03225_E1	73.7	1.89	NOR	---	---	25,44	71.588	NOR	NOR	---	---	23,82	113.345	NOR
MC03226_E1	25.1	1.96	NOR	---	---	30,21	42.323	NOR	NOR	---	---	27,59	83.664	NOR
MC03227_E1	107.5	1.88	HET	28,87	46.086	27,74	40.817	HET	NOR	38,48	15.490	23,77	132.304	NOR
MC03228_E1	75.2	1.89	NOR	---	---	27,69	55.404	NOR	NOR	---	---	24,68	115.859	NOR
MC03229_E1	30.7	1.96	NOR	38,58	11.891	28,27	62.872	NOR	NOR	39,66	15.236	25,59	129.574	NOR
MC03230_E1	68.3	1.86	NOR	---	---	25,24	75.370	NOR	HET	25,82	105.647	23,95	110.101	HET
MC03231_E1	119.2	1.88	NOR	---	---	25,51	72.438	NOR	NOR	36,98	16.949	23,71	125.512	NOR
MC03232_E1	158.7	1.88	NOR	---	---	25,95	56.355	NOR	NOR	30,73	30.340	22,60	152.197	NOR
MC03233_E1	224.2	1.82	NOR	---	---	24,92	67.127	NOR	NOR	---	---	22,71	133.244	NOR
MC03234_E1	76.4	1.91	NOR	---	---	27,89	52.524	NOR	NOR	---	---	25,15	100.645	NOR
MC03235_E1	57.5	1.91	NOR	---	---	27,88	50.787	NOR	NOR	---	---	24,63	102.539	NOR
MC03236_E1	77.1	1.90	NOR	---	---	28,22	49.000	NOR	NOR	---	---	25,05	101.643	NOR


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Biog. GERMAIN PÉREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

www.detxmol.com.ar
 info@detxmol.com.ar
 www.detxmol.com.ar
 www.detxmol.com.ar



Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A					FACTOR V LEIDEN						
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT					
				CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN			CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	INTERPRETACIÓN			
Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn			
MC03237_E1	56.7	1.90	NOR	---	---	26,46	68.440	NOR	NOR	36,57	17.432	24,32	125.542	NOR
MC03238_E1	42.0	1.87	NOR	---	---	26,03	74.930	NOR	NOR	39,54	15.313	25,04	116.593	NOR
MC03239_E1	207.8	1.87	NOR	39,75	10.181	25,11	72.257	NOR	NOR	---	---	23,47	110.963	NOR
MC03240_E1	48.9	1.92	NOR	---	---	25,77	54.007	NOR	NOR	---	---	24,20	89.177	NOR
MC03241_E1	28,5	1,86	NOR	---	---	28,21	65.467	NOR	NOR	---	---	25,91	108.047	NOR
MC03242_E1	81,3	1,74	NOR	---	---	26,74	66.543	NOR	NOR	---	---	23,90	129.018	NOR
MC03988_E1	21,7	1,83	NOR	---	---	28,70	69.756	NOR	NOR	---	---	26,25	119.777	NOR
MC03989_E1	31,3	1,82	NOR	---	---	26,27	82.913	NOR	NOR	---	---	24,38	116.035	NOR
MC03990_E1	45,3	1,83	NOR	37,09	14.357	26,72	77.160	NOR	NOR	---	---	24,61	117.389	NOR
MC03991_E1	29,6	1,82	HET	29,05	63.583	28,05	54.249	HET	NOR	---	---	25,44	122.701	NOR
MC03992_E1	66,1	1,83	NOR	---	---	26,37	70.091	NOR	NOR	---	---	23,61	133.029	NOR
MC03993_E1	23,7	1,84	NOR	---	---	27,18	83.467	NOR	NOR	---	---	25,84	122.376	NOR
MC03994_E1	36,6	1,78	NOR	---	---	27,58	64.710	NOR	NOR	---	---	24,99	116.339	NOR
MC03995_E1	41,8	1,83	NOR	---	---	29,20	48.192	NOR	NOR	38,03	17.554	24,76	137.972	NOR
MC03996_E1	3,1	1,77	NOR	---	---	27,53	71.271	NOR	HET	30,46	43.755	26,81	81.56	HET
MC03997_E1	29	1,83	NOR	---	---	28,15	65.132	NOR	NOR	38,65	15.957	24,81	133.774	NOR
MC03998_E1	18,1	1,84	NOR	---	---	28,24	66.918	NOR	NOR	36,08	18.947	25,10	146.007	NOR
MC03999_E1	29,3	1,82	NOR	39,85	10.242	26,99	71.911	NOR	NOR	---	---	24,77	123.133	NOR
MC04000_E1	31,3	1,82	NOR	---	---	27,89	61.936	NOR	NOR	36,24	20.211	24,41	144.87	NOR
MC04001_E1	30,8	1,81	NOR	---	---	27,55	67.324	NOR	NOR	---	---	24,78	120.47	NOR
MC04002_E1	31,7	1,84	NOR	---	---	28,57	64.173	NOR	NOR	---	---	26,56	102.815	NOR
MC04003_E1	15,3	1,71	NOR	---	---	30,06	50.050	NOR	NOR	---	---	26,77	104.399	NOR
MC04004_E1	45,5	1,83	NOR	36,66	13.970	24,96	94.478	NOR	NOR	---	---	24,67	102.505	NOR
MC04005_E1	14,2	1,73	NOR	---	---	28,13	70.224	NOR	HET	29,30	67.691	26,66	88.539	HET
MC04006_E1	31,3	1,76	NOR	---	---	27,55	74.709	NOR	NOR	36,71	19.568	25,18	113.332	NOR
MC04007_E1	36,8	1,82	NOR	37,90	11.654	26,72	73.283	NOR	HET	28,87	59.019	26,13	78.056	HET
MC04008_E1	56	1,86	NOR	---	---	25,94	70.853	NOR	MUT	27,36	84.248	---	---	MUT
MC04009_E1	23,9	1,8	NOR	---	---	27,67	77.660	NOR	NOR	---	---	25,99	104.124	NOR
MC04010_E1	10,1	1,78	NOR	---	---	26,18	61.316	NOR	NOR	---	---	23,83	117.796	NOR
MC04011_E1	13,2	1,66	NOR	---	---	30,83	41.808	NOR	NOR	---	---	26,86	107.493	NOR
MC04012_E1	9,7	1,64	NOR	---	---	30,75	42.580	NOR	NOR	---	---	27,61	89.334	NOR
MC04013_E1	5,3	1,84	NOR	---	---	30,75	48.411	NOR	NOR	37,75	18.124	27,47	113.068	NOR
MC04014_E1	3,7	1,49	NOR	---	---	28,18	57.880	NOR	HET	28,82	65.656	26,09	76.401	HET


Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.





Muestra ID	[DNA (ng/ul)]	Relación A260/A280	FACTOR II G20210A						FACTOR V LEIDEN					
			Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN	Secuenciación Sanger	MultiTarget® THR KIT				INTERPRETACIÓN
				CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN			CANAL FAM (alelo mutado)	CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		INTERPRETACIÓN	
Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct		ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn		
MC04015_E1	36,4	1,8	NOR	---	---	26,94	69.395	NOR	NOR	---	---	24,73	125.302	NOR
MC04016_E1	22,2	1,74	NOR	---	---	28,60	49.636	NOR	NOR	---	---	25,96	96.496	NOR
MC04017_E1	23,1	1,81	HET	26,99	81.582	26,73	52.605	HET	NOR	---	---	24,87	118.373	NOR
MC04018_E1	27,6	1,84	NOR	---	---	28,73	55.775	NOR	NOR	39,74	15.294	26,41	102.557	NOR
MC04583_E1	9,6	1,83	NOR	38,72	12.347	30,18	52.524	NOR	NOR	---	---	26,94	107.875	NOR
MC04585_E1	4,2	1,57	NOR	---	---	32,31	38.153	NOR	NOR	---	---	29,46	92.736	NOR
MC04587_E1	6,7	1,82	NOR	39,77	10.212	28,66	74.414	NOR	HET	30,88	58.992	28,42	67.878	HET
MC04589_E1	8,9	1,74	NOR	---	---	28,63	66.385	NOR	NOR	---	---	26,94	102.861	NOR
MC04591_E1	9,1	1,62	NOR	38,52	12.005	28,04	74.605	NOR	NOR	---	---	26,32	111.204	NOR
MC04593_E1	3,8	1,65	NOR	---	---	32,11	41.597	NOR	HET	35,54	35.639	31,73	59.863	HET
MC04597_E1	5,2	1,73	NOR	---	---	31,11	46.100	NOR	NOR	---	---	28,47	101.602	NOR
MC04599_E1	3,5	1,71	NOR	---	---	31,65	42.894	NOR	NOR	---	---	28,90	97.955	NOR
MC04601_E1	4,9	1,74	NOR	---	---	31,64	46.714	NOR	NOR	---	---	28,91	87.619	NOR
MC04603_E1	3,4	1,71	NOR	---	---	32,77	37.401	NOR	NOR	38,71	17.322	28,76	103.665	NOR
MC04605_E1	11	1,78	NOR	---	---	27,82	71.620	NOR	NOR	39,44	15.602	26,16	119.404	NOR
MC04607_E1	2,7	1,59	NOR	36,58	13.815	30,62	58.813	NOR	NOR	35,30	23.802	27,68	124.824	NOR
MC04609_E1	2,3	1,55	NOR	---	---	33,11	37.360	NOR	NOR	---	---	28,81	118.179	NOR
MC04611_E1	3,9	1,49	HET	31,44	44.412	32,87	31.278	HET	NOR	36,86	18.852	27,30	111.095	NOR
MC04613_E1	2,3	1,53	NOR	---	---	32,14	43.574	NOR	NOR	37,86	18.441	28,72	113.413	NOR
MC04615_E1	4,7	1,72	NOR	---	---	31,53	40.224	NOR	NOR	---	---	29,06	81.428	NOR
MC04617_E1	3,2	1,76	NOR	---	---	31,94	40.685	NOR	NOR	---	---	29,81	81.429	NOR
MC04619_E1	7,8	1,77	NOR	38,22	12.26	27,80	77.703	NOR	NOR	---	---	27,09	106.514	NOR
MC04621_E1	7,7	1,49	NOR	---	---	32,17	36.822	NOR	NOR	---	---	29,20	79.103	NOR
MC04623_E1	4,7	1,72	NOR	---	---	30,75	55.428	NOR	NOR	---	---	28,67	103.767	NOR
MC04625_E1	2,6	1,87	NOR	39,78	10.294	31,70	43.463	NOR	NOR	---	---	29,94	91.247	NOR
MC04627_E1	2,9	1,62	NOR	---	---	31,51	49.025	NOR	NOR	---	---	29,10	103.806	NOR
MC04629_E1	6,5	1,8	NOR	---	---	30,95	45.168	NOR	NOR	---	---	28,76	78.389	NOR

Los datos de Ct mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación.
 Instrumento de qPCR utilizado: QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Bloq. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

Bloq. GERMAN PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detxmol

10. VALIDACIÓN DE LA ESTABILIDAD

10.1. MARCO NORMATIVO:

- Norma ISO 23640:2011. In vitro diagnostic medical devices — Evaluation of stability of in vitro diagnostic reagents.
- CDSCO/IVD/GD/Stability/01/2022 - Guidance on Stability Studies of in Vitro Diagnostic Medical Device (IVDMD).
- CLSI EP25 - Evaluation of Stability of In Vitro Medical Laboratory Test Reagents, 2nd Ed.

10.2. DOCUMENTO INTERNO DEL SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD

PN. EST.08 - PLAN DE GESTIÓN DE LOS RIESGOS PARA KITS (versión 01 - 13/02/2023).

10.3. EQUIPOS

Los equipos utilizados durante el plan de trabajo fueron calibrados adecuadamente y el sistema fiscalizado con los estándares y/o controles correspondientes (ver **TABLA 16**). Para los registros de temperatura se utilizó un Termómetro electrónico (Fabricante: Comark, Modelo: Comark Dilligence EV N2014, Número de serie: 10200333, Código interno: Eq55_1) con las siguientes sondas:

Temperatura de calibración	40°C	0°C; 5°C; 10°C	-25°C; -20°C; -15°C
Marca	Testo	Comark	Comark
Modelo	0602 0645	TC-K2-A	TC-K2-A
ID	C-4274	C-4272	C-4273
Nº Lab. certificador INTI	48	48	48
Número de certificado	2023-001814	2023-001814	2023-001814

10.4. ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA

LOTE: TH1-KIT-24.02

EQUIPO qPCR USADO: Real Time CFX96 (25°C y 5°C) - Real Time QuantStudio™ 3 (37°C)

PLANIFICACIÓN Y RESULTADOS: se evaluó la estabilidad del producto mediante incubación a 5°C, 25°C y 37°C durante 30 días. Las mediciones se realizaron por quintuplicado a distintos tiempos: 3, 7, 14, 21 y 30 días con el **MultiTarget® THR KIT**. Los valores de Ct y ΔRn en tiempo 0 serán comunes a todas las temperaturas. El diseño del estudio fue isócrono de inicio escalonado. En cada periodo temporal y de cada temperatura de incubación, se testearon 4 réplicas del control de reactivo (CR), 5 réplicas del control positivo del kit (CP: **TH1-CTRL POS**), 5 o 10 réplicas de muestras clínicas homocigotas normales (NOR) 3XL0D y 5 réplicas de muestras clínicas heterocigotas (HET) 3XL0D.

Los datos experimentales (valores de Ct y ΔRn para cada canal, para cada réplica y para cada punto temporal y a las temperaturas evaluadas) se muestran en la **TABLA 17** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

Los valores de Ct promedios (Ct_{prom}) y desvío standard (DS) para cada muestra/control analizado, para cada punto temporal y a las temperaturas evaluadas se muestran en la **TABLA 18**. (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).


Blaq. GERARDO PÉREZ


DE DIEGO CHOUHY

Director Técnico
DET x MOL S.A. 4, Campus Corporativo Coo Núcleo
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

TABLA 16. DATOS DEL EQUIPAMIENTO UTILIZADO (Fuente: RE.OPE.04 - REGISTRO DE EQUIPOS)

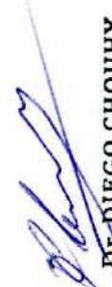
CODIGO	EQUIPAMIENTO	DESCRIPCIÓN	N° SERIE	PERIODICIDAD	Fecha de Verificación	Fecha de próxima verificación
Eq18_2	Freezer vertical de Laboratorio	Freezer vertical de laboratorio . Modelo: Bio Compact II 410 ATEX Freezer -25/-5°C - 312L. Marca: Gram.	10266963	12 meses	20/7/2023	20/07/2024
Eq19_2	Heladera de Laboratorio	Heladera de laboratorio. Modelo: Bio Compact II 410 ATEX +2/+15°C - 312LRefrigerador . Marca: Gram.	10266988	12 meses	20/7/2023	20/07/2024
Eq64_1	Centrifuga de mesa	Centrifuga de mesa Presvac, modelo TCI-16	35.192	----	----	----
Eq53_1	Robot automatizador OT2	Plataforma automatizadora de pipeteo OT2 - Opentrons con 3 pipetas electronicas monocanal (P20, P300 y P1000)	OT2CEP20220228R06	----	----	----
Eq57_1	Concentrador de Vacío SpeedVac	THERMO SAVANT SPEEDVAC SPD120P1/UVS450A	1155076601220422 1155063201220309	----	----	----
Eq59_1	Cámara Fría	Cámara de refrigeración empotrada, hasta -30°, doble motor GoodCold	1194830 + 1194829	3 meses	19/01/2024	19/04/2024
Eq03_1	Real Time QuantStudio™ 3	Real Time 3 canales /(modelo Quantstudio 3) cod A28137	272322438	3 meses	22/1/2024	22/04/2024
Eq40_1	Real Time CFX96 Touch Real Time PCR Detection System	Termociclador en tiempo real CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (96 posiciones, gradiente y 6 canales).	785BR24305	12 meses	23/6/2023	23/06/2024
Eq51_1	Centrífuga tubos de 15/50 ml	Centrífuga Multipropósito de Baja Velocidad DLab + rotor A8-50	LT216A50000320	----	----	----
Eq09_3	Centrífuga p/24 microtubos 22000x g	Centrífuga - Scilogex High Speed - con rotor para 24 tubos de 2/1.5 ml	LW214AS0000301	----	----	----
Eq22_3	Cabina de seguridad biológica clase II	Cabina de Seguridad Biológica Clase II tipo A2. Marca EuroClone BioAir. Modelo: SafeMate ECO1.2 Código: LDE2200	S2376	36 meses	10/1/2022	10/01/2025
Eq22_1	Cabina de seguridad biológica clase II	Cabina de Seguridad Biológica Clase II tipo A2. Marca EuroClone BioAir. Modelo: SafeMate ECO1.2 Código: LDE2200	S2299	36 meses	29/3/2022	29/03/2025
Eq22_2	Cabina de seguridad biológica clase II	Cabina de Seguridad Biológica Clase II tipo A2. Marca EuroClone BioAir. Modelo: SafeMate ECO1.2 Código: LDE2200	S2375	36 meses	10/1/2022	10/01/2025
Eq14_1	Incubadora de precisión	Incubadora de precisión SureTemp. Vol 70lts T Modelo : BMK-H250570E Marca : Benchmark Scientific	70329030	12 meses	12/8/2023	12/08/2024
Eq42_2	Microondas	modelo MD1720N	00049997	----	----	----
Eq58_1	Fluorometro Quantus	Fluorometro Quantus para tubos de 0.5 pared delgada, marca Promega. REF E6150	0000435128	----	----	----
Eq56_1	Flujo Laminar vertical	Marca Dauerhaft BBS-V1300 (BIOBASE)	BBS13VD220600157A	36 meses	---	05/12/2025
Eq56_2	Flujo Laminar vertical	Marca Dauerhaft BBS-V1300 (BIOBASE)	BBS13VD220600158A	36 meses	---	05/12/2025
Eq23_1	Cabina de seguridad biológica clase II ECO1.5	Cabina de Seguridad Biológica Clase II tipo A2. Marca: EuroClone BioAir. Modelo: SafeMate ECO1.5 Código LDF2200	S2578	12 meses	10/1/2024	10/01/2025
Eq05_1	Espectrofotometro NanoDrop Lite	Espectrofotometro de microvolúmenes (Modelo Nanodrop Lite) cod ND-LITE	4678	36 meses	09/08/2022	29/08/2025
Eq20_1	Ultrafreezer -80°C	Ultrafreezer -80° Modelo:Lexicon II, 480 L . Marca: Esco.	105179	12 meses	09/08/2023	10/08/2024

Dr. DIEGO CHEQUIN
Apoderado
DETX MOL S.A.

TABLA 17A. DATOS DE ESTABILIDAD ACELERADA A 37°C - FACTOR V LEIDEN

MUESTRAS CONTROL	0 días				3 días				7 días				14 días				21 días				30 días							
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)					
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn				
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	36,15	9	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	29,77	16	---	---	32,05	-34	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	37,47	33	---	---	---	---	---	---	33,20	4	---	---	29,55	-98	33,63	-64	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	26,44	641	31,70	62,00	25,94	577	---	---	28,37	412	---	---	29,32	325	---	---	27,45	366	---	---	26,41	325	---	---	---	---
	---	---	26,01	712	---	---	26,83	557	---	---	27,29	499	---	---	27,83	423	---	---	30,22	261	---	---	30,18	423	---	---	---	---
	30,92	89	25,13	888	---	---	26,08	667	35,00	43	26,53	624	---	---	29,03	406	---	---	28,25	349	---	---	31,32	406	---	---	---	---
	29,35	110	25,06	880	xxx	xxx	xxx	xxx	---	---	28,08	445	---	---	27,39	481	---	---	29,07	303	---	---	28,49	481	---	---	---	---
	29,63	92	25,38	652	xxx	xxx	xxx	xxx	34,76	38	26,56	491	---	---	27,31	412	---	---	28,23	310	---	---	31,53	412	---	---	---	---
HET	28,84	262	28,56	286	27,77	343	27,15	381	28,30	264	27,98	299	28,87	219	28,63	257	28,61	179	28,68	224	28,93	219	29,80	257	---	---	---	---
	27,11	342	26,68	364	27,17	410	26,96	422	27,83	252	27,19	296	28,58	214	28,35	249	28,69	156	29,07	199	27,54	214	29,72	249	---	---	---	---
	27,16	378	26,98	411	27,06	380	26,49	435	27,20	312	26,76	358	27,25	275	26,63	343	28,69	150	29,10	213	xxx	xxx	xxx	xxx	---	---	---	---
	28,28	278	27,67	336	xxx	xxx	xxx	xxx	27,25	315	27,04	375	30,27	129	28,97	224	31,10	84	30,31	175	31,04	129	31,77	224	---	---	---	---
	26,49	485	26,65	489	xxx	xxx	xxx	xxx	28,71	201	27,74	285	30,20	164	28,92	250	31,12	87	30,45	166	33,18	164	31,57	250	---	---	---	---
CP	25,85	298	24,68	481	23,07	249	21,84	438	23,39	191	21,97	371	24,03	177	22,29	328	23,81	110	21,96	241	25,13	177	23,34	328	---	---	---	---
	25,45	338	24,55	539	23,31	253	22,09	443	23,41	215	22,07	374	24,18	194	22,59	320	24,08	130	21,77	189	24,29	194	23,03	320	---	---	---	---
	25,12	314	23,86	509	23,28	248	21,97	425	23,50	252	22,11	444	24,88	104	22,41	244	24,10	133	22,11	339	25,57	104	23,48	244	---	---	---	---
	25,14	404	24,19	602	xxx	xxx	xxx	xxx	22,89	160	21,61	364	24,22	196	22,64	366	23,83	70	22,57	186	26,23	196	24,19	366	---	---	---	---
	25,56	319	24,40	537	xxx	xxx	xxx	xxx	23,93	130	22,47	313	23,64	222	22,15	444	24,61	59	22,48	251	---	---	24,36	444	---	---	---	---

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. xxx: corresponde a resultados anulados.


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


BICHO GERMAN PEREZ
 Director

TABLA 17A. DATOS DE ESTABILIDAD ACCELERADA A 25°C - FACTOR V LEIDEN

MUESTRAS CONTROL	0 días				3 días				7 días				14 días				21 días				30 días			
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn																				
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	30,57	63675	---	---	---	---	---	---	29,59	67755	---	---	32,11	43703	---	---	30,98	44676	---	---	30,72	---
	---	---	30,26	67962	---	---	---	---	---	---	29,94	68992	---	---	32,19	42283	---	---	31,40	50083	---	---	32,93	---
	---	---	30,09	74595	35,90	21569	31,24	52750	---	---	30,98	57754	---	---	30,50	61061	---	---	30,53	53208	xxx	xxx	xxx	xxx
	---	---	30,34	65405	---	---	31,65	52641	39,68	15544	29,51	80804	---	---	30,62	64195	---	---	31,01	49379	---	---	31,92	---
	---	---	29,38	79330	38,48	18061	31,04	52478	35,60	23077	29,08	89652	38,96	17069	30,38	70949	---	---	30,16	56545	36,11	22674	30,12	---
HET	---	---	29,01	83460	38,90	17324	30,35	62059	---	---	28,93	81021	37,31	19638	29,37	78591	---	---	30,00	57724	38,86	17161	30,16	---
	---	---	29,17	86007	---	---	30,96	54610	38,09	17640	28,30	95952	39,94	15125	29,89	70063	38,80	17171	29,05	68399	---	---	30,13	---
	---	---	29,93	78422	38,56	17735	30,30	66026	---	---	29,18	76609	35,33	25182	29,68	77307	---	---	29,72	61064	---	---	30,23	---
	---	---	30,01	61881	---	---	31,22	55273	---	---	29,46	70034	---	---	31,05	51968	---	---	30,68	49112	---	---	32,77	---
	---	---	29,92	61798	---	---	31,32	54540	---	---	30,44	57246	---	---	30,54	52192	---	---	31,26	47743	---	---	32,06	---
CP	32,35	50150	30,79	38961	33,11	55456	31,83	43665	31,32	67014	30,38	50209	33,56	43864	31,59	35339	33,07	50172	30,96	43689	35,61	33759	33,01	32,35
	32,50	57634	31,32	43668	32,41	65841	31,20	48025	31,19	72182	29,91	56496	31,67	70668	30,45	52195	33,89	45071	31,25	42005	35,47	35634	32,83	32,50
	31,39	62499	29,92	45802	33,77	53769	32,19	41770	31,03	72492	29,94	54349	32,53	60458	31,03	43581	31,04	52289	29,51	41890	32,07	61839	30,77	31,39
	32,23	60823	30,21	49085	32,27	69187	30,94	52082	30,76	73419	29,62	52555	32,00	71870	30,45	51805	31,91	58184	30,21	47011	31,90	60597	30,69	32,23
	32,46	51261	30,76	39356	33,48	54502	31,55	43864	31,66	62836	30,61	46903	32,42	59097	30,57	41849	32,16	55342	30,09	46813	32,87	51786	30,53	32,46

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. xxx: corresponde a resultados anulados.


Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETX MOL S.A.



TABLA 17A. DATOS DE ESTABILIDAD ACCELERADA A 5°C - FACTOR V LEIDEN

MUESTRAS CONTROL	0 días				3 días				7 días				14 días				21 días				30 días							
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)					
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn				
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	37,47	33	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	30,57	63675	---	---	30,63	64621	---	---	28,97	67136	---	---	30,48	59393	---	---	29,68	63967	---	---	30,45	51979				
	---	---	30,26	67962	---	---	30,90	55723	38,83	16933	29,31	78238	39,92	15145	29,48	74985	---	---	---	---	---	---	30,52	56858				
	---	---	30,09	74595	39,20	16788	29,54	75201	---	---	30,14	67680	---	---	29,84	71216	---	---	29,73	64994	---	---	30,44	50253				
	---	---	30,34	65405	---	---	28,96	79685	---	---	29,14	88168	37,98	18073	28,85	79581	---	---	28,75	79582	---	---	28,85	79334				
	---	---	29,38	79330	37,29	20570	28,70	90091	35,35	24899	28,09	100682	32,94	30634	28,23	98683	---	---	29,05	73819	---	---	29,59	62889				
HET	---	---	29,01	83460	37,63	19581	28,61	85416	---	---	28,69	83596	38,96	16817	28,36	85302	---	---	28,55	78668	---	---	29,28	73334				
	---	---	29,17	86007	39,01	16430	28,61	81175	36,41	20981	28,10	106801	34,65	25839	27,33	113187	---	---	29,17	58374	---	---	29,48	56296				
	---	---	29,93	78422	36,39	20588	28,23	95517	---	---	28,97	81751	---	---	28,30	86885	---	---	28,90	71013	---	---	29,26	64006				
	---	---	30,01	61881	---	---	29,61	69425	---	---	29,53	62015	---	---	29,27	64181	---	---	30,19	65312	---	---	29,61	65665				
	---	---	29,92	61798	---	---	29,26	79861	---	---	29,87	60341	---	---	28,54	77673	---	---	30,17	64802	---	---	30,13	60049				
CP	32,35	50150	30,79	38961	32,35	50150	31,47	42603	33,48	42070	31,23	38495	31,63	65360	29,93	50029	31,89	67926	30,05	53259	31,69	62587	29,90	49294				
	32,50	57634	31,32	43668	32,00	68810	30,32	54618	31,13	66892	29,35	54929	32,00	58716	30,35	43139	32,09	61397	30,37	49749	32,14	59375	30,10	47782				
	31,39	62499	29,92	45802	30,89	85750	29,83	59843	31,52	69386	29,93	55702	31,21	72295	29,92	47829	31,26	78054	29,70	55185	30,81	75259	29,93	51361				
	32,23	60823	30,21	49085	31,84	70161	30,01	52138	31,64	65678	29,88	51245	31,53	71838	30,02	51312	31,26	73120	29,84	51577	31,45	65554	29,87	47890				
	32,46	51261	30,76	39356	30,86	89216	29,61	60868	32,06	56801	30,21	44586	30,26	90984	29,26	55833	32,08	59266	30,08	47319	32,32	56907	30,38	46192				

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. xxx: corresponde a resultados anulados.


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETX MOL S.A.



TABLA 17B. DATOS DE ESTABILIDAD ACELERADA A 37°C - FACTOR II G20210A

MUESTRAS CONTROL	0 días				3 días				7 días				14 días				21 días				30 días							
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)					
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn																								
CR	---	---	---	---	37,23	33	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	32,06	50	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	25,89	757	---	---	26,51	623	---	---	26,91	529	---	---	27,21	569	---	---	29,40	382	---	---	29,92	349	---	---	29,92	349
	---	---	25,91	751	---	---	27,01	699	---	---	26,95	609	---	---	xxx	xxx	---	---	27,84	562	---	---	29,55	393	---	---	29,55	393
	---	---	25,52	935	---	---	26,73	714	---	---	27,16	516	---	---	27,17	640	---	---	28,86	474	---	---	28,70	446	---	---	28,70	446
	---	---	25,52	897	---	---	xxx	xxx	---	---	25,45	767	---	---	27,31	612	---	---	28,02	537	---	---	29,53	361	---	---	29,53	361
	---	---	25,58	824	---	---	xxx	xxx	---	---	26,97	519	---	---	27,75	482	---	---	28,90	359	---	---	28,64	347	---	---	28,64	347
HET	26,99	367	26,96	550	27,91	259	27,81	505	28,19	221	28,34	356	29,15	179	28,88	330	30,79	116	30,29	249	33,09	71	32,29	168	33,09	71	32,29	168
	26,56	392	26,68	590	27,59	276	27,72	511	27,53	215	28,06	333	28,81	177	28,83	310	31,03	104	30,76	225	31,74	94	31,17	199	31,74	94	31,17	199
	26,49	409	26,76	625	27,52	311	27,54	548	27,69	237	27,64	403	28,45	212	28,52	362	28,98	226	28,86	361	30,69	125	30,04	253	30,69	125	30,04	253
	26,48	367	26,79	542	xxx	xxx	xxx	xxx	28,72	207	28,51	355	27,65	227	28,23	373	33,30	74	32,70	169	31,65	101	31,38	192	31,65	101	31,38	192
	26,43	433	26,53	648	xxx	xxx	xxx	xxx	28,64	208	28,52	340	28,35	209	28,42	344	32,08	90	31,56	203	30,65	133	29,94	292	30,65	133	29,94	292
CP	24,73	476	25,54	542	23,10	331	23,68	407	22,70	330	23,51	381	23,35	223	24,12	280	26,47	93	24,65	304	27,53	87	27,59	151	27,53	87	27,59	151
	24,36	480	25,35	515	23,05	326	23,52	461	23,30	258	24,02	312	23,37	240	24,09	294	25,96	159	25,12	306	27,54	61	27,10	130	27,54	61	27,10	130
	24,57	514	25,69	547	23,01	371	23,78	485	22,88	293	23,71	337	22,87	285	23,67	325	25,85	187	24,78	382	26,27	153	25,47	283	26,27	153	25,47	283
	25,17	377	25,92	417	xxx	xxx	xxx	xxx	23,21	268	23,84	313	22,69	338	23,49	390	25,86	127	25,17	273	26,49	91	26,23	153	26,49	91	26,23	153
	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx																				

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. xxx: corresponde a resultados anulados.


Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.



TABLA 17B. DATOS DE ESTABILIDAD ACELERADA A 25°C - FACTOR II G20210A

MUESTRAS CONTROL	0 días				3 días				7 días				14 días				21 días				30 días							
	CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC					
	(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)					
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn																								
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	32,61	36282	---	---	32,38	41541	---	---	29,27	84353	---	---	---	---	---	---	35,35	15696	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	33,43	32415	---	---	32,03	47224	---	---	33,37	34029	---	---	---	---	---	---	34,96	14648	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	31,64	50265	---	---	32,46	44311	---	---	32,20	45494	---	---	---	---	---	---	36,05	15695	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	31,62	53556	---	---	31,31	57742	---	---	31,88	49951	---	---	34,19	28692	---	---	33,83	24236	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	31,42	56786	---	---	30,73	64265	---	---	31,01	61136	---	---	32,76	40585	---	---	32,78	30038	---	---	---	---	---	---	---	---
HET	---	---	30,44	61808	---	---	29,90	67015	---	---	---	---	---	---	32,20	45971	---	---	32,84	35499	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	30,80	55936	---	---	29,73	81056	---	---	---	---	---	---	33,01	38537	---	---	31,59	42623	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	30,92	55280	---	---	30,31	66074	---	---	30,81	64964	---	---	33,99	31349	---	---	33,14	33992	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	32,24	43238	---	---	31,78	47600	---	---	32,75	37892	---	---	34,15	25796	---	---	33,82	25052	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	32,12	43307	---	---	31,34	50386	---	---	32,28	43906	---	---	33,25	33549	---	---	35,22	17349	---	---	---	---	---	---	---	---
CP	32,90	35967	31,32	42874	33,20	32709	31,16	42659	35,50	21646	32,92	30278	34,97	25080	33,05	30926	---	---	35,35	17658	---	---	32,90	35967				
	32,98	34854	31,43	41562	32,08	38526	30,77	42614	32,87	38237	31,40	45083	34,04	29007	32,19	33874	---	---	34,86	18956	---	---	32,98	34854				
	32,21	38494	30,83	45077	31,20	46354	30,22	49353	32,27	40465	30,92	47505	32,89	38288	31,38	41578	36,30	17481	33,54	24650	---	---	32,21	38494				
	32,65	37035	30,95	42974	31,87	39040	30,29	49156	33,56	31882	31,54	40535	32,67	42757	31,03	49506	37,03	16497	33,67	24697	---	---	32,65	37035				
	32,87	34186	30,85	42161	30,79	54414	29,65	57498	31,90	45430	31,12	50756	31,73	50333	30,81	51348	34,35	25995	32,60	30288	37,04	16884	32,87	34186				

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. xxx: corresponde a resultados anulados.


Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.



TABLA 17B. DATOS DE ESTABILIDAD ACELERADA A 5°C - FACTOR II G20210A

MUESTRAS CONTROL	0 días				3 días				7 días				14 días				21 días				30 días							
	CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC					
	(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)		(alelo mutado)		(alelo normal)					
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn																								
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	32,61	36282	---	---	32,79	36483	---	---	33,36	30194	---	---	33,44	29377	---	---	32,23	33870	39,50	11708	34,83	---	---	---	---	---
	---	---	33,43	32415	---	---	32,81	37637	---	---	33,82	27959	---	---	32,82	34522	---	---	32,96	32381	---	---	35,24	---	---	---	---	---
	---	---	31,64	50265	---	---	32,05	45479	---	---	32,11	44888	---	---	31,96	40346	---	---	33,14	33868	---	---	34,36	---	---	---	---	---
	---	---	31,62	53556	---	---	30,03	70120	---	---	31,63	51898	---	---	32,17	40138	---	---	31,64	45539	---	---	33,88	---	---	---	---	---
	---	---	31,42	56786	---	---	30,27	74149	---	---	30,91	64259	---	---	31,05	52828	---	---	31,38	54058	---	---	32,92	---	---	---	---	---
HET	---	---	30,44	61808	---	---	29,88	69588	---	---	29,94	70206	---	---	30,16	64341	---	---	31,05	50485	---	---	31,32	---	---	---	---	---
	---	---	30,80	55936	---	---	29,59	87578	---	---	30,33	64553	---	---	29,86	73342	---	---	31,00	54600	---	---	31,09	---	---	---	---	---
	---	---	30,92	55280	---	---	28,96	83924	---	---	30,78	66058	---	---	29,77	69018	---	---	31,68	45866	---	---	31,49	---	---	---	---	---
	---	---	32,24	43238	---	---	31,34	52372	---	---	31,75	42393	---	---	28,67	75226	---	---	32,95	33041	---	---	32,80	---	---	---	---	---
	---	---	32,12	43307	---	---	32,16	44285	---	---	31,36	45967	---	---	31,21	49443	---	---	31,56	47796	---	---	32,69	---	---	---	---	---
CP	32,90	35967	31,32	42874	33,03	35408	31,63	41929	33,80	29683	31,52	37632	33,58	28303	31,20	35696	35,49	20352	33,01	30444	34,09	30398	32,12	32,90	---	---	---	---
	32,98	34854	31,43	41562	32,71	38039	30,99	47116	33,40	29222	31,43	35964	31,58	42000	30,51	45055	33,40	33757	31,59	39390	34,07	31119	31,91	32,98	---	---	---	---
	32,21	38494	30,83	45077	31,83	43129	30,77	49607	32,40	37383	30,72	44125	31,59	42437	30,16	47023	32,45	40073	30,50	49024	33,37	34625	31,62	32,21	---	---	---	---
	32,65	37035	30,95	42974	32,63	39526	30,57	46745	30,97	46846	29,26	53343	31,74	45813	30,15	49186	33,87	29527	31,50	39956	33,04	34722	31,37	32,65	---	---	---	---
	32,87	34186	30,85	42161	32,47	37603	30,90	44558	31,60	45083	30,14	50121	32,34	36169	30,61	38328	33,02	36377	30,82	45650	33,85	29959	31,27	32,87	---	---	---	---

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. xxx: corresponde a resultados anulados.


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Bioq. Gabriela PEREZ
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.
 Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
 TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



TABLA 18A. ESTABILIDAD ACELERADA - FACTOR V LEIDEN - RESUMEN DE DATOS (Ct promedios / Desvío estándar) PARA CADA TEMPERATURA

MUESTRAS CONTROL	0 días				3 días				7 días				14 días				21 días				30 días							
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)					
	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS				
37°C																												
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
P.NOR	---	---	25,60	0,60	---	---	26,28	0,48	---	---	27,37	0,85	---	---	28,18	0,94	---	---	28,64	1,05	---	---	29,59	2,15	---	---	---	---
P.HET	27,58	0,96	27,31	0,81	27,33	0,38	26,87	0,34	27,86	0,66	27,34	0,50	29,03	1,26	28,30	0,97	29,64	1,34	29,52	0,80	30,17	2,47	30,72	1,11	---	---	---	---
CP	25,42	0,31	24,34	0,32	23,22	0,13	21,97	0,13	23,42	0,37	22,05	0,31	24,19	0,45	22,42	0,20	24,09	0,32	22,18	0,34	25,31	0,81	23,68	0,57	---	---	---	---
25°C																												
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
P.NOR	---	---	29,87	0,52	---	---	31,01	0,47	---	---	29,54	0,77	---	---	30,63	0,94	---	---	30,48	0,74	---	---	31,23	1,19	---	---	---	---
P.HET	32,19	0,46	30,60	0,55	33,01	0,65	31,54	0,50	31,19	0,33	30,09	0,40	32,44	0,72	30,82	0,49	32,41	1,10	30,40	0,70	33,58	1,82	31,57	1,24	---	---	---	---
CP	30,75	0,77	28,20	0,47	30,67	1,45	27,94	0,60	28,09	1,03	25,79	0,48	28,63	1,05	26,22	0,71	28,34	0,81	25,40	0,38	30,10	1,58	26,46	0,51	---	---	---	---
5°C																												
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
P.NOR	---	---	29,87	0,45	---	---	29,31	0,98	---	---	29,08	0,73	---	---	28,87	0,87	---	---	29,35	0,48	---	---	29,76	0,73	---	---	---	---
P.HET	32,19	0,46	30,60	0,48	31,59	0,68	30,25	0,56	31,97	0,91	30,12	0,70	31,33	0,66	29,90	0,69	31,72	0,42	30,01	0,75	31,68	0,60	30,04	0,35	---	---	---	---
CP	30,75	0,77	28,20	0,47	30,56	0,99	28,14	0,51	29,84	0,94	27,55	0,51	29,83	1,04	27,45	0,36	30,53	1,23	27,73	0,56	30,73	1,23	27,84	0,63	---	---	---	---


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETX MOL S.A.

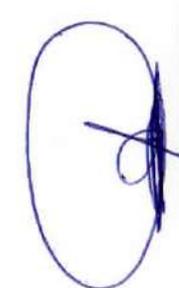


TABLA 18B. ESTABILIDAD ACELERADA - FACTOR II G20210A - RESUMEN DE DATOS (Ct promedios / Desvío estándar) PARA CADA TEMPERATURA

MUESTRAS CONTROL	0 días				3 días				7 días				14 días				21 días				30 días							
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)					
	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS	Ct _{prom}	DS				
37°C																												
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
P.NOR	---	---	25,68	0,20	---	---	26,75	0,25	---	---	26,69	0,70	---	---	27,36	0,27	---	---	28,60	0,65	---	---	29,27	0,57	---	---	---	---
P.HET	26,59	0,23	26,74	0,16	27,67	0,21	27,69	0,14	28,15	0,54	28,21	0,37	28,48	0,56	28,58	0,28	31,24	1,60	30,83	1,43	31,56	1,00	30,96	0,98	---	---	---	---
CP	24,67	0,31	25,58	0,23	23,05	0,05	23,66	0,13	23,03	0,24	23,73	0,20	23,13	0,32	23,89	0,29	25,91	0,37	24,85	0,29	26,88	0,61	26,44	0,88	---	---	---	---
25°C																												
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
P.NOR	---	---	31,72	0,91	---	---	31,20	0,99	---	---	31,70	1,29	---	---	33,36	0,77	---	---	33,96	1,41	---	---	35,90	1,48	---	---	---	---
P.HET	32,72	0,31	31,08	0,28	31,83	0,92	30,42	0,57	33,22	1,42	31,58	0,79	33,26	1,26	31,69	0,92	37,07	1,90	34,00	1,10	38,37	1,32	35,58	1,07	---	---	---	---
CP	31,32	0,63	30,50	0,47	30,48	1,03	29,75	0,80	32,17	0,92	31,02	0,68	32,23	1,46	31,25	1,30	30,60	0,86	28,70	0,55	32,14	1,76	30,11	1,33	---	---	---	---
5°C																												
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
P.NOR	---	---	31,72	0,91	---	---	30,99	1,41	---	---	31,60	1,24	---	---	31,11	1,51	---	---	31,96	0,81	---	---	33,06	1,48	---	---	---	---
P.HET	32,72	0,31	31,08	0,28	32,53	0,44	30,97	0,40	32,43	1,19	30,61	0,94	32,17	0,85	30,53	0,43	33,65	1,15	31,48	0,97	33,68	0,46	31,66	0,36	---	---	---	---
CP	31,32	0,63	30,50	0,47	30,98	0,75	29,94	0,57	29,96	0,57	29,29	0,57	30,57	1,13	29,64	0,90	31,91	1,20	30,20	0,99	32,44	1,21	30,51	0,90	---	---	---	---


Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Bioq. GERMAN PEREZ

Los datos de $C_{t_{prom}}$ se utilizaron para realizar una regresión lineal entre $\ln(C_{t_{prom}})$ vs tiempo (días), considerando la medición en cada canal (FAM y HEX/JOE/VIC) para cada una de las muestras (NOR: homocigota normal y HET: heterocigota) y el Control Positivo (TH1-CRTL POS). Mientras HET y TH1-CRTL POS tienen lecturas en ambos canales (FAM y HEX/JOE/VIC), NOR solo tiene amplificación en el canal HEX/JOE/VIC.

A partir de la pendiente de cada curva, se determinó la constante de la reacción de degradación (kj) para cada temperatura para cada canal de lectura de las muestras o control positivo. Los valores de kj para ambos sistemas se muestran en la **TABLA 19**.

TABLA 19. VALORES DE LA CONSTANTE kj

		FACTOR V LEIDEN			FACTOR II G20210A		
		37	25	5	37	25	5
	TEMPERATURA (°C)						
	TEMPERATURA (°K)	310,15	298,15	278,15	310,15	298,15	278,15
kj	HET-FAM	0,0035	0,0011	0,0002	0,0035	0,0011	0,0002
	TH1-CRTL POS-FAM	0,0037	0,0028	0,0003	0,0037	0,0028	0,0003
	NOR-HEX	0,0046	0,0011	0,0007	0,0046	0,0011	0,0007
	HET-HEX	0,0044	0,0015	0,0005	0,0044	0,0015	0,0005
	TH1-CRTL POS-HEX	0,0024	0,0023	0,0004	0,0024	0,0023	0,0004

Posteriormente, se grafica la curva $\ln(kj)$ vs $1/T(^{\circ}K)$, de forma de obtener los coeficientes (a: ordenada y b: pendiente) del modelo. La **FIGURA 2** muestra los gráficos de Arrhenius con el ajuste de regresión lineal para ambos sistemas de amplificación: **MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV** y **MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII**.

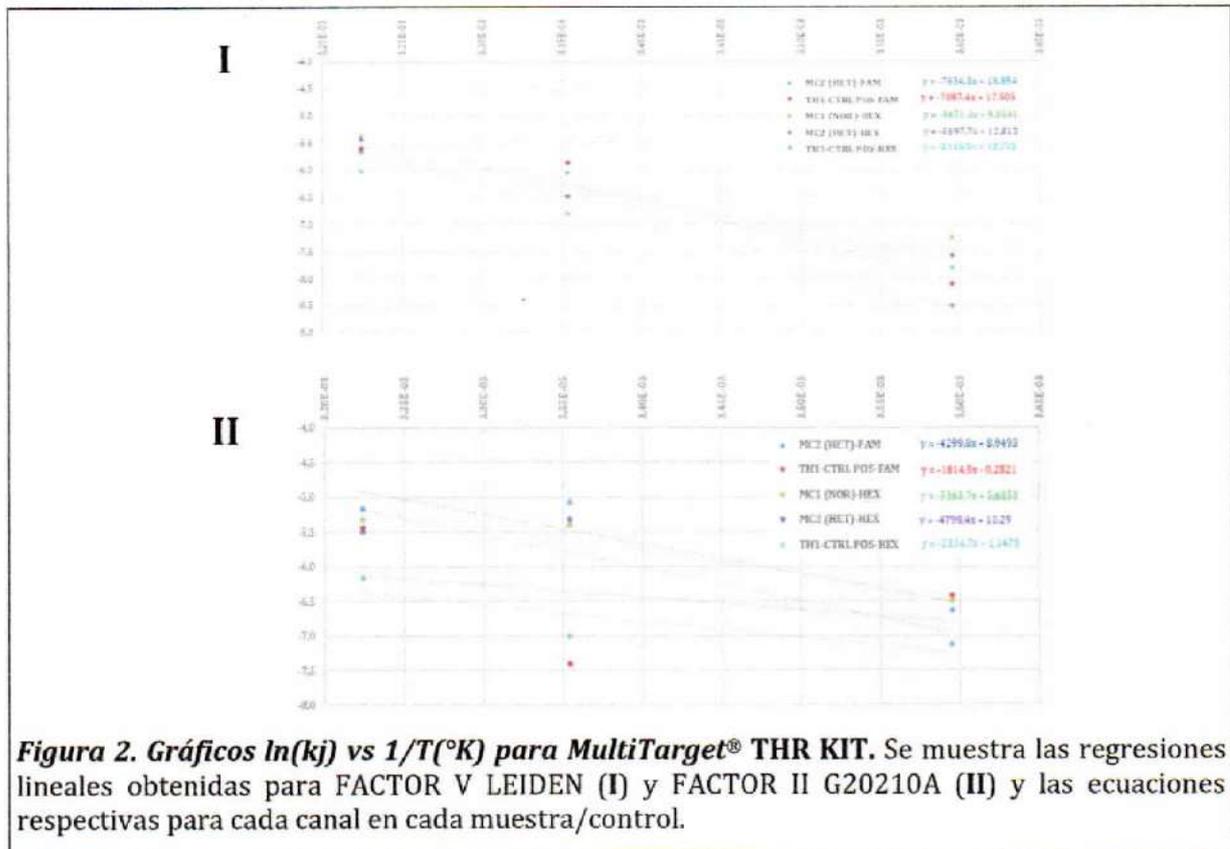


Figura 2. Gráficos $\ln(kj)$ vs $1/T(^{\circ}K)$ para MultiTarget® THR KIT. Se muestra las regresiones lineales obtenidas para FACTOR V LEIDEN (I) y FACTOR II G20210A (II) y las ecuaciones respectivas para cada canal en cada muestra/control.


Bloq. GERMAN PEREZ
 Director Técnico


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

Estos coeficientes (a: ordenada y b: pendiente) obtenidos del gráfico son utilizados para estimar la constante de velocidad a la temperatura normal de almacenamiento del producto en °K ($k_{norm} = -20\text{ °C} = 253,15\text{ °K}$) para cada uno de los sistemas. Los valores de k_{norm} se detallan en la **TABLA 20**.

	k_{norm}	
	FACTOR V LEIDEN	FACTOR II G20210A
HET-FAM	$1,284 \times 10^{-5}$	$3,236 \times 10^{-4}$
TH1-CTRL POS-FAM	$2,776 \times 10^{-5}$	$3,667 \times 10^{-4}$
NOR-HEX	$1,119 \times 10^{-4}$	$4,895 \times 10^{-4}$
HET-HEX	$6,158 \times 10^{-5}$	$1,726 \times 10^{-4}$
TH1-CTRL POS-HEX	$7,371 \times 10^{-5}$	$3,177 \times 10^{-4}$

Finalmente, se procede a calcular la **estabilidad de la vida útil prevista** (t_{stab}), expresada en días, considerando como rendimiento aceptable una degradación del 20% del producto, es decir, un valor máximo permitido del contenido de mensurando de 0,80. Los resultados se detallan en la **TABLA 21**.

	t_{stab} (días)	
	FACTOR V LEIDEN	FACTOR II G20210A
HET-FAM	17383,5	689,5
TH1-CTRL POS-FAM	8037,7	608,6
NOR-HEX	1993,9	455,8
HET-HEX	3623,8	1293,1
TH1-CTRL POS-HEX	3027,2	702,4
PROMEDIO	6813,2	749,9

Considerando como parámetro el promedio en días de vida útil prevista para cada sistema, los datos indican que el **MultiTarget® THR KIT** tendría una estabilidad de vida útil prevista en 2 años (24 meses - 750 días).

CONCLUSIÓN DEL ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA

En base a los resultados obtenidos mediante la ecuación de Arrhenius y considerando el menor valor de t_{stab} calculado (**TABLA 21**), el **MultiTarget® THR KIT** es estable y no muestra deterioro significativo para las condiciones de almacenamiento recomendadas en el manual de instrucciones (-20°C) y **tendría una vida útil prevista en 15 meses**.

10.5. ESTUDIO DE SIMULACIÓN DE TRANSPORTE

LOTE: TH1-KIT-24.02

EQUIPO qPCR USADO: Real Time QuantStudio™ 3.

PLANIFICACIÓN Y RESULTADOS: se evaluó el impacto de la variabilidad ambiental durante la distribución del producto mediante el uso de **estudios de estrés** que simulan la exposición del producto a las condiciones de transporte del "peor caso" que puede experimentar después de la producción y antes de que el cliente lo coloque en condiciones normales de almacenamiento.

El producto fabricado se mantendrá en las condiciones de almacenamiento recomendadas (-20°C) y luego pasará por las secuencias de condiciones de estrés establecidas para el ensayo (CONDICIÓN I y II), para finalmente se volver a colocar en las

Bioq. GERMAN PEREZ

Director Técnico

DETX MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY

Apoderado cleo

DETX MOL S.A.

Piso 3, Calle 4, Campus Corporativo Coop. Argentina
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

condiciones de almacenamiento recomendadas (-20°C). El diseño del estudio es clásico (en tiempo real) y refleja un modelo de distribución de envío de productos poco después de la fabricación.

CONDICIÓN I: 3 días a -20°C → 10 días a 5°C → 7 días a -20°C

CONDICIÓN II: 3 días a -20°C → 10 días a 5°C → 1 día a 40°C → 6 días a -20°C

Las mediciones se realizaron por quintuplicado al inicio (t = 0 días) y final (t = 20 días) del estudio. En cada medición se testearán 4 réplicas del control de reactivo (CR), 5 réplicas control positivo del kit (CP: TH1-CTRL POS), 5 réplicas de muestra clínica homocigota normal 3X LOD (NOR), 5 réplicas de muestra clínica heterocigota 3X LOD (HET) y 5 réplicas de muestra homocigota mutada 3X LOD (MUT) que fueron simuladas utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT).

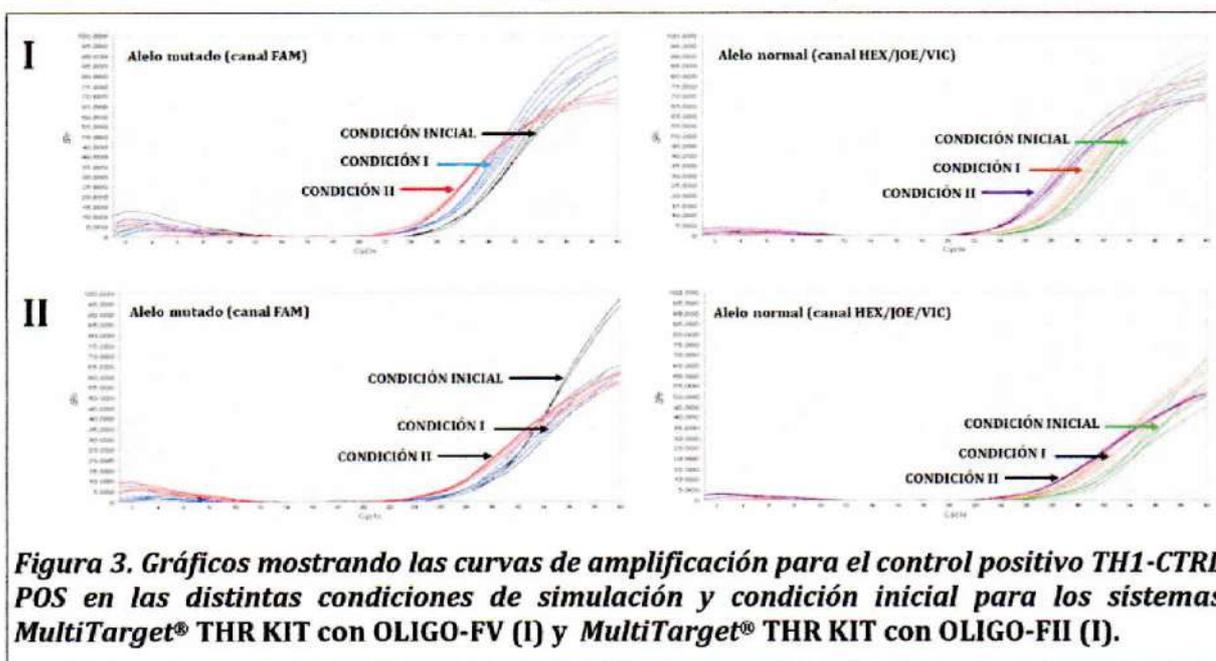
Los datos experimentales (valores de Ct y ΔRn para cada canal, para cada réplica y para cada punto temporal y a las temperaturas evaluadas) se muestran en la **TABLA 22** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

En base a estos datos, se calculan los valores de Ct promedios (Ct_{prom}) y desvío standard (DS) para cada muestra/control analizado y para cada condición. Tomando los valores de Ct promedios (Ct_{prom}) se estiman los desvíos relativos porcentuales (DRP) de cada componente para cada condición de simulación (CONDICIÓN I y II) comparados contra su respectiva referencia (CONDICIÓN INICIAL) según la fórmula:

$$DRP = [Ct_{(tx)} - Ct_{(t0)}] \times 100 / Ct_{(tx)}$$

Para cada caso, DRP no debe superar el 5% para definir que el producto resultó estable y no muestra deterioro significativo en el período estudiado. Los resultados se detallan en la **TABLA 23**.

En la **FIGURA 3** se representa gráficamente las curvas de amplificación para los alelos normal (FAM) y mutado (HEX/JOE/VIC) del control positivo del kit (TH1-CTRL POS) para las condiciones de simulación e inicial para Factor V Leiden y Factor II G20210A.



Bioq. **GERMAN PEREZ**
 Director Técnico
 DETx MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

TABLA 22A. ESTUDIO DE SIMULACIÓN DE TRANSPORTE - FACTOR V LEIDEN (valores de Ct y ΔRn).

MUESTRAS/ CONTROLES	CONDICIÓN INICIAL				CONDICIÓN I				CONDICIÓN II			
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	27,94	12,578	29,47	69.969	---	---	28,77	80.641	---	---	28,74	82.072
	---	---	30,00	72.294	---	---	29,05	83.588	---	---	28,58	79.367
	---	---	30,53	57.813	---	---	29,45	69.635	---	---	29,22	64.888
	---	---	30,02	66.695	---	---	29,39	75.133	---	---	28,57	76.915
HET	37,27	14,366	29,91	66.992	46,75	20,592	29,14	69.166	---	---	29,58	62.075
	31,97	51.411	31,55	42.649	31,25	66.399	30,25	51.826	31,96	57.083	30,78	41.634
	31,71	54.949	31,31	45.929	32,73	54.261	30,64	48.823	30,87	58.995	29,59	41.198
	31,12	54.371	30,55	44.539	30,46	86.678	29,74	61.684	30,61	76.761	29,60	50.805
	30,29	71.993	30,54	48.804	30,10	96.706	29,09	67.277	29,95	76.830	29,02	49.187
MUT	30,29	62.367	30,93	46.972	31,06	75.790	29,70	57.065	30,50	78.770	29,22	51.395
	29,84	155.764	---	---	28,66	213.072	---	---	29,99	119.745	---	---
	30,36	142.704	---	---	29,80	151.128	---	---	28,75	142.720	---	---
	28,66	167.120	30,64	67,19	28,80	161.153	---	---	29,32	125.852	30,19	5,301
	30,54	123.983	---	---	30,21	128.714	---	---	29,33	138.384	---	---
TH1-CTRL POS	31,57	114.651	---	---	28,78	175.253	30,27	5,098	29,69	130.501	---	---
	28,38	73.785	27,73	70.707	28,73	67.247	26,68	69.916	26,26	73.141	24,42	70.920
	27,72	90.917	27,27	83.881	28,02	88.188	26,25	79.818	25,68	87.934	24,13	75.530
	28,61	72.959	27,60	71.927	27,57	95.947	26,25	81.968	26,54	68.511	24,26	68.951
	27,68	94.453	27,10	87.986	27,85	89.213	26,20	78.745	25,53	88.601	24,01	78.601
TH1-CTRL POS	28,06	81.423	27,06	77.207	27,51	100.850	25,97	91.757	26,41	65.917	24,23	67.890

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. xxx: corresponde a resultados anulados.

[Firma]
Dr. DIEGO CIROUHY

TABLA 22B. ESTUDIO DE SIMULACIÓN DE TRANSPORTE - FACTOR II G20210A (valores de Ct y ΔRn).

MUESTRAS/ CONTROLES	CONDICIÓN INICIAL				CONDICIÓN I				CONDICIÓN II			
	CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		CANAL FAM (alelo mutado)		CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)	
	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	30,13	67.998	---	---	29,51	83.060	---	---	29,62	76.184
	---	---	30,90	55.392	---	---	29,86	70.279	---	---	29,63	68.258
	---	---	30,65	66.453	---	---	29,47	80.768	---	---	29,44	78.192
	---	---	30,82	57.237	---	---	30,62	64.133	---	---	29,72	67.305
	---	---	32,39	38.205	---	---	31,19	50.595	---	---	31,23	48.644
HET	35,42	21.480	33,18	28.576	34,78	24.112	32,44	33.955	34,83	23.692	32,85	30.133
	34,81	25.254	32,49	34.877	33,19	35.397	31,59	45.609	35,50	23.516	32,35	33.821
	34,73	25.096	32,61	33.956	33,50	33.962	31,41	42.869	34,40	26.400	32,25	35.066
	33,48	31.759	31,27	40.722	31,93	44.750	30,28	51.624	33,63	30.155	31,72	36.785
	33,53	31.786	31,87	38.736	32,99	36.693	30,96	46.916	34,36	28.495	31,60	40.419
MUT	29,83	97.294	38,12	5.774	29,11	98.467	36,15	6.952	29,43	102.148	37,18	6.390
	29,92	93.785	38,62	5.795	29,18	108.914	37,57	6.338	29,94	91.807	---	---
	30,68	74.845	39,41	5.462	29,95	80.964	38,09	5.612	31,24	65.239	38,90	5.389
	31,71	66.240	39,22	5.490	29,50	93.066	---	---	31,50	68.744	---	---
	31,57	68.221	---	---	30,09	91.199	---	---	29,57	99.940	36,08	7.488
TH1-CTRL POS	30,75	50.368	29,99	44.729	29,76	58.280	28,65	54.447	28,14	56.922	27,15	51.133
	29,35	66.203	29,00	55.356	28,37	73.319	27,94	62.431	27,79	62.392	26,92	51.675
	xxx	xxx	xxx	xxx	29,24	61.338	28,50	54.241	27,82	61.734	26,96	52.011
	30,01	61.684	29,52	50.006	28,38	80.214	27,90	64.578	27,86	58.085	26,94	50.502
	28,84	66.752	28,10	55.092	29,08	65.925	28,10	60.874	27,28	66.122	26,47	57.730

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación. xxx: corresponde a resultados anulados.



Dr. DIEGO CHOUHY

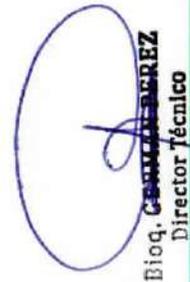
Aprobado
DET X MOL S.A.

TABLA 23. ESTUDIO DE SIMULACIÓN DE TRANSPORTE (valores de Ct y ΔRn, y DRP).

MUESTRAS/ CONTROLES	CONDICIÓN INICIAL						CONDICIÓN II						CONDICIÓN III					
	CANAL FAM (alelo mutado)			CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)			CANAL FAM (alelo mutado)			CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)			CANAL FAM (alelo mutado)			CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)		
	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP
MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV																		
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	---	29,99	0,38	nc	---	---	---	29,16	0,27	2,8%	---	---	---	28,94	0,45	3,6%
HET	31,08	0,78	nc	30,98	0,45	nc	31,12	1,01	0,1%	29,88	0,59	3,7%	30,78	0,74	1,0%	29,64	0,68	4,5%
PAT	30,19	1,06	nc	---	---	---	29,25	0,71	3,2%	---	---	---	29,42	0,46	2,6%	---	---	---
CP	28,09	0,41	nc	27,35	0,30	nc	27,94	0,49	0,6%	26,27	0,26	4,1%	26,08	0,45	7,7%	24,21	0,15	13,0%
MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII																		
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	---	30,98	0,84	nc	---	---	---	30,13	0,75	2,8%	---	---	---	29,93	0,73	3,5%
HET	34,39	0,85	nc	32,28	0,73	nc	33,28	1,03	3,4%	31,34	0,80	3,0%	34,54	0,69	0,4%	32,15	0,51	0,4%
PAT	30,74	0,89	nc	---	---	---	29,57	0,44	4,0%	---	---	---	30,34	0,97	1,3%	---	---	---
CP	29,74	0,83	nc	29,15	0,81	nc	28,97	0,60	2,7%	28,22	0,34	3,3%	27,78	0,31	7,1%	26,89	0,25	8,4%

Se remarca en rojo aquellos valores de DRP mayores o iguales a 5%. nc: no corresponde.


DR. DIEGO CHOUHY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Bioq. CAMILA ALVAREZ
 Director Técnico

En base a estos resultados podemos decir que:

- para la CONDICIÓN I, los DRP no superan el 5% para las muestras (NOR y HET) y controles (CR y CP), indicando que el producto resultó estable y no muestra deterioro significativo cuando se almacenó durante 10 días a 25°C.
- para la CONDICIÓN II, si bien los DRP no superan el 5% para las muestras (NOR y HET), se evidenció DRP mayores al 5% para el control positivo del kit (TH1-CRTL POS), indicando que este semielaborado no resultó estable y mostró deterioro en el desempeño cuando se almacenó durante 10 días a 25°C y luego 1 día a 40°C. Esto se observa en conjunto con la disminución en los valores de Ct (como se puede ver en la **TABLA 23**), lo cual podría indicar evaporación del semielaborado, concentrándose los ADN plasmídicos que contiene.

CONCLUSIÓN DEL ESTUDIO DE SIMULACIÓN DE TRANSPORTE

Considerando que la intención de uso del **MultiTarget® THR KIT** es poder detectar alelos específicos, esto sigue siendo factible a pesar del estrés al cual fue sometido el producto en la simulación de transporte, ya que no se evidenciaron aumentos significativos de los valores de Ct con respecto al valor esperado (es decir, ΔCt mayores a 1,5) que indicarían degradación de los componentes del producto.

Los estudios realizados con distintos **contenedores con aislamiento térmico (COLD BOX)** y **acumuladores de frío (GEL PACKS)** determinaron condiciones óptimas de conservación del producto para su transporte a largas distancia como se muestra en la siguiente **TABLA 24** a continuación.

TABLA 24. ESTUDIO DE CONTENEDORES Y ACUMULADORES DE FRÍO PARA TRANSPORTE

Dimensiones (mm)	Grosor (mm)	Kg de Gel pack	N° KITS	Tiempo (días) hasta superar		
				0 °C	5 °C	10 °C
360 x 190 x 224	50	3,51	18	0,25	2,08	2,61
360 x 190 x 224	50	4,35	12	2,43	3,35	3,53
253 x 142 x 130	30	1,38	3	0,62	5,20	6,52

Es por ello, que consideramos que el producto es estable y no muestra deterioro significativo para las condiciones de transporte recomendadas en el manual de instrucciones (5°C a 10°C).

10.6. ESTUDIO DE CICLOS DE CONGELAMIENTO/DESCONGELAMIENTO (C/D)

LOTE: TH1-KIT-24.02

EQUIPO qPCR USADO: Real Time QuantStudio™ 3.

PLANIFICACIÓN Y RESULTADOS: se evaluó el impacto que pueden tener reiterados ciclos C/D (5, 10 y 20 ciclos) en el desempeño del producto. Para ello, el producto fabricado se mantuvo en las condiciones de almacenamiento recomendadas (-20°C) y luego se sometió a su descongelamiento a temperatura ambiente (25°C) durante 30 minutos para luego volver a incubar en las condiciones de almacenamiento recomendadas (-20°C). El diseño del estudio es isócrono de inicio escalonado. Las mediciones se realizarán por quintuplicado. En cada medición se testearán 4 réplicas del control de reactivo (CR), 5 réplicas del control positivo del kit (CP: TH1-CRTL POS), 5 réplicas de muestra clínica homocigota normal 3X LOD (NOR), 5 réplicas o 3 réplicas muestra clínica heterocigota 3X LOD (HET) para Factor V Leiden y Factor II G20210A, respectivamente, y 5 réplicas de

Bloq. GERMAN PEREZ
Director Técnico

Dr. DIEGO CHOUHY

Piso 3, Cabedex MOL S.A., Campus Corporativo Cooperativo Apoderado
Ruta provincial 16 km 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina
DET x MOL S.A.

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar

detx mol

muestra homocigota mutada 3X LOD (MUT) que fueron simuladas utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT).

Los datos experimentales (valores de Ct y ΔRn para cada canal, para cada réplica y para cada ciclo C/D) se muestran en la **TABLA 25** (A. FACTOR V LEIDEN - B. FACTOR II G20210A).

En base a estos datos, se calculan los valores de Ct promedios (Ct_{prom}) y desvío standard (DS) para cada muestra/control analizado y para cada condición de ciclos C/D. Tomando los valores de Ct promedios (Ct_{prom}) se estiman los desvíos relativos porcentuales (DRP) de cada componente para cada número de ciclos C/D (5 - 10 - 20)) comparados contra su respectiva referencia (1 ciclo) según la fórmula:

$$DRP = [Ct_{(tx)} - Ct_{(t0)}] \times 100 / Ct_{(tx)}$$

Para cada caso, DRP no debe superar el 5% para definir que el producto resultó estable y no muestra deterioro significativo en el período estudiado. Los resultados se detallan en la **TABLA 26**.

En la **FIGURA 4** se representa gráficamente las curvas de amplificación para los alelos normal (FAM) y mutado (HEX/JOE/VIC) del control positivo del kit (TH1-CTRL POS) para los distintos ciclos C/D para Factor V Leiden y Factor II G20210A.

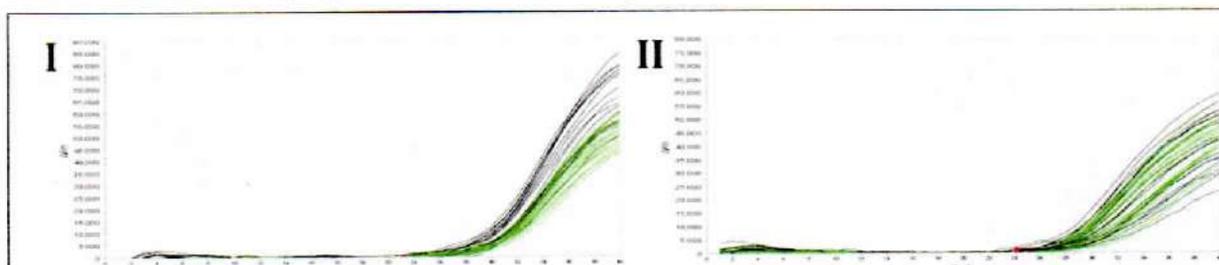


Figura 4. Gráficos mostrando las curvas de amplificación para el control positivo TH1-CTRL POS en las distintas condiciones de simulación y condición inicial para los sistemas MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV (I) y MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII (II). Las curvas color verde corresponden a la amplificación del alelo normal (HEX/JOE/VIC) y las de color negro al alelo mutado (FAM).

En base a estos resultados podemos decir que para la cantidad de ciclos C/D evaluados (5, 10 y 20 ciclos), los desvíos relativos porcentuales (DRP) no superaron el 5% indicando que el producto resultó estable y no muestra deterioro significativo.

CONCLUSIÓN DEL ESTUDIO DE CONGELADO/DESCONGELADO

Considerando que la intención de uso del **MultiTarget® THR KIT** es poder detectar alelos específicos, esto sigue siendo factible a pesar del haber sometido al producto a 20 ciclos C/D, ya que no se evidenció DRP mayores al 5% que indicarían la no degradación de los componentes del producto. Sin embargo, se recomienda en el manual de instrucciones no realizar más de 10 ciclos C/D.



Bioq. GERMAN PEREZ

Director Técnico, Campus Corporativo Cooperativo Núcleo
Ruta provincial 5, Alvear (2130), Santa Fe, Argentina

TE: +54 (0341) 7352035 info@detxmol.com.ar www.detxmol.com.ar



Dr. DIEGO CHOUHY

Apoderado

DETx MOL S.A.



TABLA 25A. ESTUDIO DE CICLOS C/D - FACTOR V LEIDEN (valores de Ct y ΔRn).

N° CICLOS	1				5				10				20			
	CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC	
	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)
MUESTRAS/ CONTROLES	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn												
CR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	28,32	82.868	---	---	28,66	81.458	38,49	17.608	27,76	108.248	38,38	17.285	27,08	120.004
	---	---	28,06	87.740	---	---	28,96	86.986	---	---	28,34	93.539	36,47	21.789	27,32	114.935
	---	---	28,82	65.220	---	---	28,03	92.323	38,52	17.293	27,94	111.424	36,80	19.506	27,21	108.617
	---	---	28,69	75.158	---	---	28,48	92.567	---	---	28,68	86.878	35,04	23.658	27,20	127.225
	---	---	28,47	75.319	---	---	29,21	72.819	---	---	29,68	61.558	---	---	28,50	82.561
HET	30,58	78.627	29,44	55.918	30,91	84.006	29,47	60.507	32,28	54.473	30,80	43.399	30,26	95.043	29,31	60.620
	30,11	100.690	28,99	65.791	31,24	79.827	29,74	59.061	31,50	64.018	29,95	49.843	29,24	124.615	28,37	76.490
	30,92	76.132	29,85	51.779	31,04	78.706	29,53	56.834	32,11	66.517	30,38	52.094	29,31	120.959	28,34	72.228
MUT	30,49	176.878	---	---	31,60	131.110	---	---	30,77	169.001	---	---	29,86	181.971	---	---
	31,24	136.557	---	---	31,10	138.888	38,11	5.421	31,51	124.083	---	---	29,40	228.029	37,87	6.286
	31,20	136.419	---	---	31,34	135.715	---	---	30,83	136.804	---	---	30,84	145.807	39,44	5.261
	29,46	183.054	---	---	31,68	138.173	---	---	31,09	137.886	---	---	30,08	165.334	---	---
	31,07	144.604	---	---	30,05	189.235	36,65	6.129	29,87	179.327	---	---	28,94	217.339	35,31	6.498
TH1-CTRL POS	27,77	79.611	25,92	77.327	29,19	71.728	26,77	82.186	27,93	84.900	25,92	77.364	26,87	100.198	25,5	74.964
	27,51	91.211	25,63	85.936	28,21	90.798	26,23	89.088	27,14	105.646	25,55	82.920	26,44	120.543	25,0	83.108
	27,97	71.362	26,13	66.587	27,94	92.404	26,09	86.224	26,76	116.571	25,50	85.732	26,37	117.375	25,3	78.409
	27,23	99.343	25,73	84.635	27,78	91.320	25,85	83.647	27,10	99.382	25,60	76.007	26,59	103.307	25,1	71.329
	27,83	81.689	25,97	74.600	27,05	109.363	25,16	97.415	26,86	114.658	25,57	86.422	26,57	121.088	25,3	85.356

Los datos de Ct y ΔRn mostrados en color gris no representan curvas sigmoideas de amplificación.


Dr. DIEGO CHOUZA
 Apoderado
 DETx MOL S.A.


Bioq. Cristian PEREZ
 Director Técnico

TABLA 25B. ESTUDIO DE CICLOS C/D - FACTOR II G20210A (valores de Ct y ΔRn).

N° CICLOS	1				5				10				20			
	CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC		CANAL FAM		CANAL HEX/JOE/VIC	
	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)	(alelo mutado)	(alelo normal)
MUESTRAS/ CONTROLES	Ct	ΔRn	Ct	ΔRn												
CR	---	---	---	---	39,38	10,763	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	38,68	12,198	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
NOR	---	---	28,94	92,632	---	---	29,82	71,589	---	---	30,19	60,667	---	---	29,74	64,725
	---	---	29,10	80,755	---	---	30,21	62,827	---	---	29,86	71,804	---	---	29,18	69,918
	---	---	28,96	90,878	---	---	29,37	76,974	---	---	29,23	81,981	---	---	28,77	81,169
	---	---	29,09	83,912	---	---	29,19	73,684	---	---	29,66	74,615	---	---	28,74	78,002
HET	XXX	XXX	XXX	XXX												
	28,69	59,572	28,37	48,642	30,54	43,525	28,84	43,045	29,36	51,023	28,16	46,621	32,03	35,605	30,23	37,137
	29,30	56,689	28,34	51,302	30,02	49,618	28,95	45,602	29,56	51,891	28,57	49,679	30,16	48,289	28,90	44,823
	29,83	53,135	28,64	55,546	31,03	42,018	29,57	42,436	29,46	51,825	28,37	49,650	29,85	53,020	28,86	48,698
MUT	27,40	134,228	33,90	8,328	27,74	120,781	37,37	5,953	---	---	---	---	28,07	114,324	35,20	7,429
	28,26	111,859	35,51	7,306	27,92	101,529	37,10	6,222	29,12	95,230	---	---	27,40	117,260	34,65	7,134
	29,26	96,500	36,46	6,894	29,41	61,710	---	---	29,40	87,752	39,56	8,243	30,72	64,945	38,67	5,826
	29,12	108,418	37,41	6,535	30,42	82,501	---	---	29,46	94,451	38,20	5,734	29,55	78,449	---	---
	29,67	96,835	---	---	30,19	81,541	---	---	29,79	87,537	---	---	29,22	79,959	---	---
TH1-CTRL POS	29,57	63,255	28,65	55,687	31,02	49,782	30,05	43,693	28,08	74,747	27,78	56,474	29,06	60,182	28,52	48,611
	28,34	82,562	28,52	63,431	30,17	57,644	29,48	48,424	28,46	80,571	28,34	61,560	29,30	58,591	28,57	45,433
	29,12	64,976	28,67	53,022	30,08	55,485	29,31	45,145	28,42	78,006	27,83	60,956	28,02	68,166	27,60	49,320
	27,59	90,648	27,37	66,927	29,53	66,282	29,20	53,472	26,78	128,306	27,62	57,791	28,34	55,539	28,01	39,376
	28,31	77,431	28,18	57,045	29,07	56,948	28,89	45,105	26,93	97,256	26,82	64,143	28,22	63,033	28,02	47,384


Dr. DIEGO CHOUIT
 Apoderado
 DETx MOL S.A.

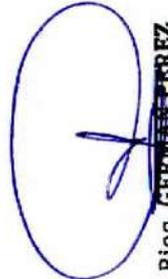

Bioq. GERARDO PEREZ

TABLA 26. ESTUDIO DE CICLOS C/D (valores de Ct y ΔRn, y DRP).

N° CICLOS	1						5						10						20							
	CANAL FAM (alelo mutado)			CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)			CANAL FAM (alelo mutado)			CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)			CANAL FAM (alelo mutado)			CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)			CANAL FAM (alelo mutado)			CANAL HEX/JOE/VIC (alelo normal)				
	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS	DRP	Ct	DS
MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FV																										
CR	---	---	nc	---	---	nc	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
NOR	---	---	nc	28,47	0,30	nc	---	---	---	28,67	0,45	0,7%	---	---	---	28,48	0,76	0,0%	---	---	---	27,46	0,59	3,7%		
HET	31,07	0,90	nc	29,43	0,54	nc	31,51	0,63	1,4%	29,58	0,14	0,5%	32,29	0,57	3,8%	30,60	0,46	3,8%	30,08	0,87	3,3%	28,93	0,67	1,7%		
MUT	30,69	0,75	nc	---	---	nc	31,15	0,66	1,5%	---	---	---	30,81	0,60	0,4%	---	---	---	29,82	0,72	2,9%	---	---	---		
CP	27,66	0,29	nc	25,88	0,20	nc	28,03	0,78	1,3%	26,02	0,59	0,6%	27,16	0,46	1,9%	25,63	0,17	1,0%	26,57	0,19	4,1%	25,25	0,18	2,5%		
MultiTarget® THR KIT con OLIGO-FII																										
CR	---	---	nc	---	---	nc	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
NOR	---	---	nc	29,02	0,08	nc	---	---	---	29,65	0,46	2,1%	---	---	---	29,74	0,40	2,4%	---	---	---	29,11	0,47	0,3%		
HET	29,27	0,57	nc	28,45	0,17	nc	30,53	0,51	4,1%	29,12	0,39	2,3%	29,46	0,14	0,6%	28,37	0,29	0,3%	30,68	1,18	4,6%	29,33	0,78	3,0%		
MUT	28,74	0,91	nc	---	---	nc	29,14	1,25	1,4%	---	---	---	29,44	0,27	2,4%	---	---	---	28,99	1,30	0,9%	---	---	---		
CP	28,59	0,77	nc	28,28	0,54	nc	29,97	0,73	4,6%	29,39	0,43	3,8%	27,73	0,82	3,1%	27,68	0,55	2,2%	28,59	0,56	0,0%	28,14	0,40	0,5%		

Se remarca en rojo aquellos valores de DRP mayores o iguales a 5%. nc: no corresponde.


DR. DIEGO CHOUMY
 Apoderado
 DETx MOL S.A.



10.7. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE VIDA ÚTIL

LOTES: TH1-KIT-24.02, TH1-KIT-24.03 y TH1-KIT-24.04.

EQUIPO qPCR USADO: Real Time QuantStudio™ 3.

PLANIFICACIÓN Y RESULTADOS: se está evaluando la estabilidad del producto almacenado a -20°C durante 12 meses. Para ello se utilizan 3 lotes del producto. Las mediciones se realizan por quintuplicado a los 0, 3, 6, 9, 12, y 13 meses. El diseño del estudio es clásico (en tiempo real). En cada medición se testean 4 réplicas el control de reactivo (CR), 5 réplicas del control positivo del kit (CP: TH1-CTRL POS), 5 réplicas de muestra clínica homocigota normal 3X LOD (NOR), 5 réplicas de muestra clínica heterocigota 3X LOD (HET) y de muestra homocigota mutada 3X LOD (MUT) que fueron simuladas utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT). En base a los resultados se establecerá la cantidad de tiempo durante el cual el producto conserva sus características de rendimiento después de haber sido almacenado en las condiciones establecidas.

Los datos serán presentados a la finalización del cronograma propuesto.

Tiempo	0	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	13 meses
Fecha	03/01/2024	03/04/2024	01/07/2024	29/09/2024	03/01/2025	03/02/2025

10.8. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE VIDA EN USO

LOTE: TH1-KIT-24.02.

EQUIPO qPCR USADO: Real Time QuantStudio™ 3.

PLANIFICACIÓN Y RESULTADOS: se está evaluando la estabilidad del producto almacenado a -20°C durante 13 meses luego de reconstituido sus componentes liofilizados (mezclas de oligonucleótidos) y descongelado de sus componentes líquidos (mezcla de reacción, control positivo y agua libre de DNasa/RNasa). Las mediciones se realizan por quintuplicado a los 0, 3, 6, 9, 12, y 13 meses. El diseño del estudio es clásico (en tiempo real). En cada medición se testean 4 réplicas el control de reactivo (CR), 5 réplicas del control positivo del kit (CP: TH1-CTRL POS), 5 réplicas de muestra clínica homocigota normal 3X LOD (NOR), 5 réplicas de muestra clínica heterocigota 3X LOD (HET) y de muestra homocigota mutada 3X LOD (MUT) que fueron simuladas utilizando cantidades adecuadas de ADN plasmídico (pFII-MUT o pFV-MUT). En base a los resultados se establecerá la cantidad de tiempo durante el cual el producto conserva sus características de rendimiento después de haber sido puesto en uso.

Los datos serán presentados a la finalización del cronograma propuesto.

Tiempo	0	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	13 meses
Fecha	03/01/2024	03/04/2024	01/07/2024	29/09/2024	03/01/2025	03/02/2025


Bióq. GERMAN PEREZ
Director Técnico


Dr. DIEGO CHOUHY
Apoderado
DETX MOL 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: DETX MOL S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 87 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.05 12:25:49 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.05 12:25:52 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001958-24-9

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

Nº 1-0047-3110-001958-24-9

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por DETx MOL 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: MultiTarget® THR KIT

Marca comercial: MultiTarget®

Modelos:

N/A

Indicación/es de uso:

Método de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa de los alelos normal y mutado de las variantes c.1691G>A del gen F5 (Factor V Leiden) y c.20210G>A del gen F2 (deficiencia de Protrombina) en pacientes

con sospecha de trombofilia y síntomas asociados a partir de muestras de sangre entera.

Forma de presentación: Kit por 25 determinaciones (cod. TH1-KIT-001.25): 1 x 56 µL TH1-OLIGOMIX, 1 x 56 µL OLIGO-FV, 1 x 56 µL OLIGO-FII, 1 x 110 µL MASTERMIX FP 5X, 1 x 200 µL TH1-CTRL POS y 1 x 1500 µL AGUA DNase/RNase free.

Kit por 50 determinaciones (cod. TH1-KIT-001.50): 1 x 110 µL TH1-OLIGOMIX, 1 x 110 µL OLIGO-FV, 1 x 110 µL OLIGO-FII, 1 x 220 µL MASTERMIX FP 5X, 1 x 200 µL TH1-CTRL POS y 1 x 1500 µL AGUA DNase/RNase free.

Kit por 100 determinaciones (cod. TH1-KIT-001.100): 1 x 220 µL TH1-OLIGOMIX, 1 x 220 µL OLIGO-FV, 1 x 220 µL OLIGO-FII, 1 x 440 µL MASTERMIX FP 5X, 1 x 200 µL TH1-CTRL POS y 1 x 1500 µL AGUA DNase/RNase free.

Composición

TH1-OLIGOMIX: mezcla de oligonucleótidos antisentidos para la amplificación específica de alelos del gen F5 y F2. Presentación: seco.

OLIGO-FV: mezcla de oligonucleótidos sentidos y sondas para la amplificación específica de alelos del gen F5. Presentación: seco.

OLIGO-FII: mezcla de oligonucleótidos sentidos y sondas para la amplificación específica de alelos del gen F2. Presentación: seco.

MASTERMIX FP 5X: mezcla de reacción que contiene todos los componentes para la reacción de amplificación (buffer de reacción, dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dUTP), Hot-Start Fast DNA polimerasa, MgCl₂, UNG, agentes aditivos que maximizan la eficiencia de la PCR, estabilizantes y conservantes). Presentación: líquido.

TH1-CTRL POS: Control Positivo que consiste en secuencias de ácidos nucleicos específicas con y sin las variantes c.1601G>A (rs6025) y G20210A (rs1799963) en los genes F5 y F2, respectivamente. Presentación: líquido.

AGUA DNase/RNase free: agua libre de nucleasas. Presentación: líquido.

Período de vida útil: Vida útil: 12 meses

Conservación: -20°C protegido de la luz.

Se recomienda no descongelar más de 10 veces.

Una vez abiertos los reactivos pueden conservarse hasta la fecha de caducidad indicada, siempre que se almacenen bajo las condiciones especificadas y se protejan de las contaminaciones.

Nombre del fabricante:

DETx MOL S.A.

Lugar de elaboración:

Piso 3 - Nave 4 del Campus Corporativo Cooperativo Núcleo. Ruta Provincial N° 16 km 5 (intersección autopista Rosario-BsAs y AO12). Alvear (2130). Santa Fe. Argentina.

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 2900-1 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

N° 1-0047-3110-001958-24-9

N° Identificador Trámite: 57506

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.06.06 18:02:57 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.06 18:03:00 -03:00