

ES	<div>REF 1N011</div> <div>STAT-NAT® EBV</div>	<div>Mezcla liofilizada para la detección cuantitativa del EBV (virus de Epstein Barr) en PCR en tiempo real</div> <div>REACTIVO: 6 x (8 x 0,025) mL BÚFFER: 1 x 1,5 mL + 1 x 1,0 mL ESTÁNDAR: 3 x (4 x 0,1) mL</div> <div><div><div>Σ</div></div>48</div>	<div>IVD</div> <div>CE</div>
	<div>NOTA: Este prospecto debe leerse atentamente antes de utilizar el producto. Deben seguirse las instrucciones del prospecto. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si hay alguna desviación de las instrucciones de este prospecto.</div>		

USO PREVISTO

El producto STAT-NAT® EBV es un ensayo cuantitativo de amplificación de ácidos nucleicos en PCR en tiempo real para la identificación de EBV¹ en muestras de ADN extraídas de plasma/suero/ hisopo/fluido cerebroespinal (CSF)/sangre entera.

PRINCIPIO

STAT-NAT® EBV permite la detección del EBV en muestras de pacientes sintomáticos sospechosos de infección respiratoria aguda o de gastroenteritis. Los niños y los individuos inmunodeprimidos se ven más afectados por las infecciones por EBV. El kit permite la identificación del EBV, a partir de muestras extraídas de Plasma/BAL/hisopo/CSF/sangre entera². STAT-NAT® EBV es una prueba de PCR en tiempo real liofilizada que permite realizar un ensayo sin pasos manuales intermedios para preparar las mezclas de reacción. Su ensayo en tubo único, compuesto por una mezcla de amplificación liofilizada y estable a temperatura ambiente, minimiza cualquier riesgo potencial derivado de errores de pipeteo y contaminación. La prueba STAT- NAT® EBV consta de una mezcla de reacción optimizada, una enzima para la polimerización (Hot Start Polymerase), cloruro de magnesio, cebadores, sondas y dNTPs. El uso de una Polymerasa Hot Start inhibe la actividad enzimática antes del inicio de los ciclos térmicos, permitiendo la reducción o eliminación de productos no específicos. Los cebadores y las sondas específicas garantizan la sensibilidad y especificidad del producto. El Control Interno (CI) endógeno (beta-globina) del kit proporciona indicaciones sobre la funcionalidad del sistema y sobre la ausencia de inhibidores de la actividad de la polimerasa, que podrían causar falsos negativos.

REACTIVOS

Los reactivos, almacenados correctamente a 15-30 °C, son estables hasta la fecha de vencimiento indicada en el envase. Utilice únicamente envases no dañados.

Componentes del kit:

REACTIVO:

6 tiras x 8 tubos de PCR de 0,2 mL que contienen una mezcla maestra liofilizada compuesta por:

- MgCl₂;
- dNTPs (dATP, dCTP, dGTP y dTTP);
- Polimerasa Hot Start Taq;
- Cebadores específicos;
- Sondas específicas;
- Búffer de reacción.

ESTÁNDAR:

3 x Curvas estándar secas:

- STAT-NAT® EBV Standard 11 x 10³ copias/μL (tapón marrón)
- STAT- NAT® EBV Standard 2 1 x 10² copias/μL (tapón violeta)
- STAT- NAT® EBV Standard 3 1 x 10¹ copias/μL (tapón amarillo)
- STAT- NAT® EBV Standard 4 1 x 10⁰ copias/μL (tapón naranja)

BUFFER:

Buffer de reconstitución STAT-NAT® de 1x 1,0 mL (tapón rojo).

Buffer de curva STD STAT-NAT® 1 x 1,5 ml (tapón azul).

El Buffer decurva STAT-NAT® STD puede utilizarse como control sin plantilla (NTC).

CALIBRACIÓN

Utilice únicamente los estándares suministrados en el kit.

CONTROL DE CALIDAD

El Control Interno del ensayo proporciona indicaciones sobre la funcionalidad del sistema y sobre la ausencia de inhibidores de la polimerasa que pudieran causar falsos negativos.

El ciclo umbral (C_t) esperado del Control Interno se sitúa entre 10 y 16. Un C_t más alto podría estar relacionado con una mala calidad del ácido nucleico extraído.

Es necesario validar cada ejecución de diagnóstico utilizando:

- un NTC (por ej., Buffer de la curva STAT-NAT® STD)
- un control positivo (es decir, puntos de la curva estándar)

MUESTRA

Plasma/BAL/hisopos/CSF/Sangre entera recogidos siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio

INSTRUMENTACIÓN Y MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Material general de laboratorio molecular: pipetas de volumen variable, plásticos estériles desechables, termociclador de PCR en tiempo real (instrumentos validados: Bio-Rad CFX96, ABI QuantStudio 5) **Reactivos:** Sistema de extracción de ADN, plantilla de ADN (los mejores resultados se obtienen con ADN de alta calidad).

NOTAS Y LIMITACIONES

Para evitar resultados erróneos:

- Examine el producto antes de utilizarlo para comprobar que el contenido tenga un aspecto sólido y blanco (figura 1). Deseche el producto que aparezca con signos de contaminación por humedad;
- El producto debe ser manipulado por personal formado en técnicas de biología molecular, como la extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos;
- Es necesario mantener separadas la zona de extracción de muestras, la zona de preparación de reactivos y la zona de amplificación/detección.



Figura 1

Liliana E. Parodi
LILIANA E. PARODI
FARMACEUTICA
MAT. 9357

Ezequiel Boezio
EZEQUIEL BOEZIO
SOCIO-GERENTE

INSTRUCCIONES DE USO

Corte el sobre de aluminio en el punto indicado por las muescas laterales. Cada sobre de aluminio contiene una única tira de 8 tubos y un pequeño gel de sílice naranja.

Saque la tira del sobre. Se recomienda utilizar toda la tira de 8 tubos en una sola sesión. Guarde el kit a temperatura ambiente. Asegúrese de que el sobre esté siempre bien cerrado y de que el gel de sílice siga dentro.

Deseche el sobre de aluminio y su contenido si el gel de sílice pasa de naranja a verde.

PROCEDIMIENTO:

Ajuste de los parámetros del ciclo de PCR en tiempo real:

1. Antes de iniciar la reacción, encienda el equipo (termociclador de PCR en tiempo real y la computadora) y abra el programa de software específico.
2. Configure el detector para la sonda objetivo con "FAM" e inhibidor "none".
3. Ajuste el detector para el Control Interno de reacción con "JOE/HEX/VIC" e inhibidor "none".
4. En el campo Referencia pasiva, si se solicita, seleccione "none".

Configuración de la reacción

1. Extraer el ADN de las muestras que se van a examinar (Qiagen, Stratec Instruments) (sistema de extracción no incluido en el kit).
2. Reconstituya y mezcle cada STAT-NAT® EBV Standard con 100 µL de Buffer de la curva STAT-NAT® STD. Espere al menos 15 minutos antes de usar.
3. Preparar los controles negativos.
4. Disponga el número necesario de tubos de ensayo.
5. Añada los componentes enumerados en el Cuadro A a la mezcla liofilizada en cada tubo de ensayo.
6. La mezcla liofilizada se disolverá en pocos segundos.
7. Asegúrese de que no haya burbujas de aire; si es así, elimínelas por aspiración con la punta de la pipeta.
8. Realice la PCR en tiempo real utilizando el perfil térmico que se muestra en el Cuadro B.

Cuadro A

Componentes	Volumen por prueba tubo/reacción
Tapón de reconstitución STAT-NAT	15 µL
ADN extraído o reconstituido STAT-NAT®	10 µL
Volumen final de la reacción	25 µL

Cuadro B

Segmento	Cant. ciclos	Temp.	Tiempo	
1	1	95°C	2 min	
2	1	95°C	15 seg	Detecc. fluores. OFF
	0	60°C	60 seg	
3	3	95°C	15 seg	Detecc. fluores. ON
	5	60°C	60 seg	

Cuadro B

9. Después del uso, deseche el residuo de los Estándares EBV STAT-NAT® reconstituidos.

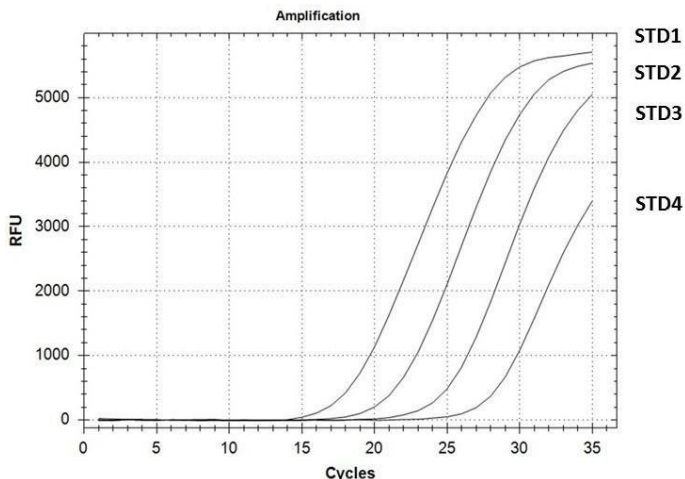


Figura 2

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- La señal FAM indica el éxito de la amplificación de la secuencia específica para la identificación del EBV;
- La señal HEX/JOE/VIC indica la amplificación exitosa de la secuencia específica para el Control Interno (Ver Cuadro F).


LILIANA E. FARODI
FARMACEUTICA
MAJ. 8357


EZEQUIEL BOEZIO
SOCIO-GERENTE

Validación de la sesión

El análisis de los resultados se realiza directamente con el software de gestión específico.
Ajuste los valores umbral como se indica en el **Cuadro C**:

Instrumento	FAM	JOE/HEX/VIC
BioRad CFX 96	5% fluorescencia	5% del valor mayor
ABI Quant Studio5	valor relativo al Estándar 1	de fluores. IC entre las muestras


LILIANA E. PARODI
FARMACEUTICA
MAT. 9357


EZEQUIEL BOEZIO
SOCIO-GERENTE

Cuadro C

Controle las curvas de amplificación para controles positivos y negativos según se indica en el Cuadro a continuación (Cuadro D):

Estándar	Interpretación	
	FAM (C _i)	Resultado
St. 1	17,1 ± 2	Válido
St. 2	20,4 ± 2	Válido
St. 3	23,7 ± 2	Válido
St. 4	27,0 ± 2	Válido
NTC	Sin señal	Válido
NTC	Señal	No válido

Cuadro D

Valores esperados para las curvas de amplificación	
R ² > 0,98	Slope < -3,0

Cuadro E

La sesión debe considerarse NO VÁLIDA y debe repetirse en el caso de que:

- El control negativo /NTC haya dado un resultado positivo;
- Las muestras con resultados negativos no hayan mostrado una amplificación del control interno (JOE/HEX/VIC).

La figura 2 muestra ejemplos de curvas amplificadas en una escala lineal.

Detección EBV	Interpretación		
	FAM	JOE/HEX/VIC (I.C.)	Resultado
Sí	Sí	Sí	Válido
Sí	Sí	No	Válido*
No	No	Sí	Válido [#]
	No	No	No válido

Cuadro F

*Muestras con alta concentración de EBV podrían inhibir la amplificación del Control Interno.

[#]En las muestras que son negativas, no se excluye que haya una concentración de ADN del EBV inferior al límite de sensibilidad


LILIANA E. PARODI
FARMACEUTICA
MAJ. 8357


EZEQUIEL BOEZIO
SOCIO-GERENTE

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ^{3,4}

Límite de detección (LoD)

La sensibilidad analítica del ensayo, como límite de detección, se determinó utilizando un panel de dilución de ADN EBV de 10⁶ a 2 copias/reacción.

El LOD se calculó sobre 30 réplicas de muestras con una concentración de 10 copias/reacción con un 95% de probabilidad de tener un resultado positivo (Cuadro G).

Límite de cuantificación (LoQ)

La concentración más baja de ADN en una muestra, que puede determinarse cuantitativamente con una precisión y exactitud aceptables en las condiciones de prueba establecidas.

El LOQ se calculó sobre diferentes niveles decrecientes obtenidos por diluciones x 30 réplicas con un 95% de probabilidad de tener un resultado positivo (Cuadro G).

Límite de detección	
95%	10 copias/reacción
Límite de cuantificación	
95%	10 copias/reacción

Cuadro G

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante la regresión lineal Probit.

REACTIVIDAD CRUZADA

Para evaluar la reactividad cruzada, se probaron 6 patógenos virales diferentes (Cuadro H).

Muestra	Resultado	Aprobado (sí/no)
VEB	Amplificación	Sí
BKV	Sin amplificación	Sí
VHS-1	Sin amplificación	Sí
VHS-2	Sin amplificación	Sí
VHH-6	Sin amplificación	Sí
ADN	Sin amplificación	Sí
CMV	Sin amplificación	Sí

Cuadro H

Linealidad:

- entre 10 y 10⁷ copias/reacción (Bio-Rad CFX96)
- entre 10 y 10⁸ copias/reacción (ABI QuantStudio5)

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS:

Señal débil o nula en el control positivo:

1. Las condiciones de la PCR en tiempo real no se ajustan a las instrucciones del prospecto del kit:
 - El Control Positivo no se añadió a la reacción. Repita la prueba;
 - Compruebe el protocolo de parámetros de ciclado de la PCR en tiempo real y seleccione los canales de fluorescencia indicados en el prospecto del kit.
2. Degradación de los cebadores/sondas: las condiciones de almacenamiento de los reactivos no se ajustan a las instrucciones del prospecto del kit:
 - Compruebe las condiciones de almacenamiento del kit;
 - Compruebe la fecha de vencimiento del kit.

Señal débil o nula en Control Interno.

1. Efecto inhibitor de la muestra: ADN genómico con una extracción de baja calidad. El resultado **NO ES VÁLIDO**:
 - Asegúrese de utilizar un método de extracción de ADN validado y siga cuidadosamente las instrucciones indicadas en el prospecto del kit.
 - Repita la prueba utilizando la misma muestra de ADN extraída. Si el resultado sigue siendo negativo, repita el paso de extracción utilizando la misma muestra primaria. De lo contrario, recoja una nueva muestra primaria y repita la prueba.
2. Error de pipeteo: Ausencia de reactivos o muestra:
 - Repita la prueba.
3. Degradación de los cebadores/sondas: las condiciones de almacenamiento de los reactivos no se ajustan a las instrucciones del prospecto del kit:
 - Compruebe las condiciones de almacenamiento del kit.
 - Compruebe la fecha de vencimiento del kit.
4. Selección incorrecta del canal/filtro. Las condiciones de PCR en tiempo real no se ajustan a las instrucciones del prospecto del kit:
 - Compruebe el protocolo de los parámetros de ciclado de la PCR en tiempo real y seleccione los canales de fluorescencia indicados en el prospecto del kit.

No hay señal FAM o JOE/HEX/VIC:

1. Efecto inhibitor de la muestra: ADN genómico con extracción de baja calidad. El resultado podría ser un falso negativo. El resultado es **NO VÁLIDO**:
 - Asegúrese de utilizar un método de extracción de ADN validado y siga cuidadosamente las instrucciones indicadas en el prospecto del kit.
2. El producto podría contener contaminación por humedad:
 - Compruebe las condiciones de almacenamiento del kit; asegúrese de que el sobre esté siempre bien cerrado y de que el gel de sílice siga dentro.
 - Compruebe si el gel de sílice pasa de naranja a verde.
 - Compruebe la fecha de vencimiento del kit.

Señal FAM en el control negativo:

1. Contaminación durante el procedimiento de preparación de la PCR en tiempo real: todos los resultados son **NO VÁLIDOS**:
 - Limpie el banco de trabajo y todos los instrumentos;
 - Manipule el Control Positivo al final del procedimiento de PCR en Tiempo Real;
 - Repita la PCR en tiempo real utilizando un nuevo juego de reactivos.

Variabilidad de la intensidad de fluorescencia:

1. La Muestra maestra no está bien reconstituida:
 - Repita cuidadosamente el procedimiento de PCR en tiempo real.
2. Hay burbujas de aire atrapadas en los tubos de PCR:
 - Elimine las burbujas de aire antes de iniciar la ejecución de la PCR en tiempo real.

No hay señal en absoluto:

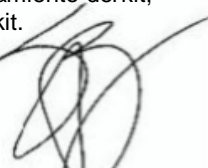
1. Compruebe el rendimiento del termociclador:
 - Realice la calibración del instrumento.
2. Degradación de los cebadores/sondas: las condiciones de almacenamiento de los reactivos no se ajustan a las instrucciones del prospecto del kit:
 - Compruebe las condiciones de almacenamiento del kit.
 - Compruebe la fecha de caducidad del kit.

Mensaje de error emitido por el instrumento de PCR en Tiempo

Real: Consulte el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con el servicio técnico local.

Las muestras duplicadas no reproducen resultados idénticos. Los valores Ct de muestras idénticas pueden diferir en reacciones individuales. Las variaciones de Ct > ± 2 sugieren errores de pipeteo u otras diferencias entre muestras duplicadas.


LILIANA E. FARODI
FARMACEUTICA
MAT. 9357


EZEQUIEL BOEZIO
SOCIO-GERENTE

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES










- Este ensayo es exclusivamente para uso IVD.
- Lea todas las instrucciones del prospecto del kit antes de realizar la prueba.
- Respete la fecha de vencimiento del kit.
- Utilice siempre equipos de protección personal para la protección individual.
- No utilice reactivos de otros kits comerciales.
- No mezcle reactivos de kits con diferente número de lote.
- Las FDS están disponibles en www.sentinel diagnostics.com o en el sitio del proveedor local.
- Mantenga el REACTIVO protegido de la luz en su sobre de aluminio.

- **PRECAUCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de especímenes humanos. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos y se manipulen de acuerdo con la norma OSHA sobre patógenos transmitidos por la sangre⁵, el nivel de bioseguridad 2⁶ u otras prácticas de bioseguridad adecuadas^{7,8} deben utilizarse para materiales que contengan o se sospeche que contengan agentes infecciosos.
- Las muestras extraídas deben evitar la contaminación por heparina. La heparina es un fuerte inhibidor de la polimerasa y podría causar falsos negativos. Las muestras de sangre periférica deben recogerse en tubos EDTA como procedimiento de laboratorio.
- Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa local.
- Gestionar y desechar todas las muestras biológicas como potencialmente infecciosas. Todo el material que entre en contacto con la muestra biológica debe tratarse con hipoclorito de sodio al 0,5% durante al menos 30 minutos o esterilizarse en autoclave a 121 °C durante 30 minutos y, a continuación, desecharse.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Rickinson AB, Kieff EN: Virus de Epstein-Barr. In Fields Virology Editado por: Knipe DM, Howley PM. Filadelfia, Lippincott- Raven
- 2) Ambinder RF, Mann RB: Detection and characterization of Epstein-Barr virus in clinical specimens. Am J Pathol 1994, 145:239-252.
- 3) CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. 3ª ed. Informe MM03 del CLSI. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
- 4) CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline - Second Edition. Documento MM06-A2 del CLSI. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010.


- 5) US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Parte 1910.1030. Bloodborne Pathogens.
- 6) US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5ª Ed. Washington, DC: US Government Printing Office, enero de 2007.
- 7) World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3ª ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2004.
- 8) Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – 3ª edición (M29-A3). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- 9) European Standard. Performance evaluation of in vitro diagnostic medical devices EN 13612. Marzo de 2002

Explanation of symbols			EN
REAGENT / STANDARD / CONTROL / BUFFER			
The terms refers to the: single reagent / standard / control / buffer			
IVD In vitro Diagnostic Medical Device	REF Catalogue number	LOT Batch code	
Cont. Contents of kit	Distributed by Distributed by	 Manufacturer	
 Caution, consult accompanying documents Consult instructions for use		 Temperature limitation	
 Do not reuse	 Do not expose the REAGENT to light	 Use by	
 Date of Manufacture	 Contains sufficient for <n> tests	 Dispose of properly	

STAT-NAT® es una marca registrada en varias jurisdicciones cuya licencia es exclusiva de SENTINEL CH. SpA. La tecnología STAT-NAT® está cubierta por la patente nº WO2010133628 A1.

Nota: los cambios respecto a la versión anterior se indican mediante una barra vertical en el margen del texto.


LILIANA E. PARODI
FARMACEUTICA
MAT. 9357


EZEQUIEL BOEZIO
SOCIO-GERENTE

LABELS MASTER FILE

REF 1N011 Product STAT-NAT[®] EBV FTP 184

Box

STAT-NAT[®] EBV

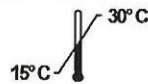
CE

REF 1N011



Cont.

REAGENT: 6 x 8 EBV Master Mix tubes
BUFFER: 1 x EBV Buffers
STANDARD: 3 x EBV Standard Curve



Liliana E. Parodi
LILIANA E. PARODI
FARMACEUTICA
MAT. 8357

Ezequiel Boezio
EZEQUIEL BOEZIO
SOCIO-GERENTE

SENTINEL CH. SpA
Via Robert Koch, 2
Milano 20152 Italy

LOT 00000 2222-12-31

(01)08058056682345(17)221231
(10)00000(240)1N011



1N011 - 01/19

Vials

STAT-NAT[®] EBV

CE

REF 1N011 8 x EBV Master Mix Tubes

2N011A - 01/19



LOT Q0000 2222-12

SENTINEL CH. SpA
Via Robert Koch, 2
Milano 20152 Italy

STAT-NAT[®] EBV

CE

REF 1N011

EBV Standard Curve:
1 x EBV Standard 1
1 x EBV Standard 2
1 x EBV Standard 3
1 x EBV Standard 4

2N011C - 01/19



LOT Q0000 2222-12

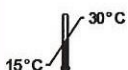
SENTINEL CH. SpA
Via Robert Koch, 2
Milano 20152 Italy

STAT-NAT[®] EBV

CE

REF 1N011
EBV Buffers:
1 x 1 mL Reconstitution Buffer
1 x 1.5 mL STD Curve Buffer

2N011B - 01/19



LOT Q0000 2222-12

SENTINEL CH. SpA
Via Robert Koch, 2
Milano 20152 Italy

STAT-NAT[®] EBV

REF 1N011 SENTINEL

STANDARD 1: LYO 100 µL

LOT Q0000 2222-12

15-30°C

2N011C1 - 01/19

STAT-NAT[®] EBV

REF 1N011 SENTINEL

STANDARD 2: LYO 100 µL

LOT Q0000 2222-12

15-30°C

2N011C2 - 01/19

STAT-NAT[®] EBV

REF 1N011 SENTINEL

STANDARD 3: LYO 100 µL

LOT Q0000 2222-12

15-30°C

2N011C3 - 01/19

STAT-NAT[®] EBV

REF 1N011 SENTINEL

STANDARD 4: LYO 100 µL

LOT Q0000 2222-12

15-30°C

2N011C4 - 01/19

STAT-NAT[®] EBV

REF 1N011 SENTINEL

Reconstitution Buffer: 1 mL

LOT Q0000 2222-12

15-30°C

2N011B1 - 01/19

STAT-NAT[®] EBV

REF 1N011 SENTINEL

STD Curve Buffer: 1.5 mL

LOT Q0000 2222-12

15-30°C

2N011B2 - 01/19

Lots and expiry dates are examples only

Prepared by: Kuczy date 15/04/2019 Approved by: Flippa date 15/04/2019 Rev 02
(Regulatory Affairs)

FABRICANTE.: SENTINEL CH.
DIREC.: VIA ROBERT KOCH, 2 MILANO
20152 ITALY

PRODUCTO: E B V

MARCA: SENTINEL

IMPORTADOR: EXSA S.R.L



LILIANA E. PARODI
FARMACEUTICA
MAT. 9357



EZEQUIEL BOEZIO
SOCIO-GERENTE

DIRECCION: AV. ADER 3620 MUNRO

D.T. FARM.: PARODI LILIANA EDITH MN: 9357

UTILIZADO POR EL M.S Y A.S., AUTORIZADO

POR ANMAT: PM 1489- 104

NO UTILIZAR SI EL ENVASE SE ENCUENTRA
DAÑADO O ABIERTO VENTA EXCLUSIVA A
PROFECIONALES E INST. SANITARIAS



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: ROTULOS E INSTRUCCIONES DE USO EXSA S R L

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 8 pagina/s.