

MANUAL DE INSTRUCCIONES:

1) NOMBRE DEL PRODUCTO: IFIFLUOR MULTITEST FAN-AMA-ASMA

2) USO A QUE ESTA DESTINADO:

Equipo para la determinación de anticuerpos anti-núcleo (FAN-ANA), anti-mitocondriales (AMA), anti-musculo liso (ASMA). Uso in vitro solamente.

3) NÚMERO DE UNIDADES DE ANÁLISIS:

El equipo permite 20 - 40 - 60 determinaciones de sueros individuales.

4) FUNDAMENTO DEL MÉTODO

ANA-FAN: Los anticuerpos anti-núcleo constituyen un conjunto de distintos anticuerpos dirigidos contra diferentes componentes del núcleo celular. El reconocimiento de estos anticuerpos se realiza por distintos métodos inmunológicos como fijación de complemento, hemoaglutinación, aglutinación, inmunodifusión, radioinmunoensayo, enzimoimmunoensayo, inmunofluorescencia, etc.

La presencia de anticuerpos contra distintos componentes nucleares se encontró en enfermedades del tejido conectivo como Lupus Eritematoso Sistémico (95%), Esclerodermia (73%), Sjogren (50%), Artritis Reumatoidea (20%), Hepatitis Crónica Autoinmune (50%), Cirrosis Biliar Primaria (35%).

La técnica de Inmunofluorescencia Indirecta sobre cortes de tejido o improntas de células Hep-2 permite detectar los anticuerpos anti núcleo (FAN-ANA) de gran utilidad para el diagnóstico y seguimiento de esas enfermedades del tejido conectivo.

Se demostraron anticuerpos anti nucleares en la enfermedad mixta del tejido conectivo, en reacciones por drogas (LES inducido por drogas), en la periarteritis nodosa, en la dermatomiositis, en la enfermedad de Hashimoto.

Se conocen 5 grupos fundamentales de anticuerpos antinucleares:

- Anticuerpos antinucleoproteínas (complejo DNA-histonas)
- Anticuerpos contra el ácido desoxirribonucleico (DNA)
- Anticuerpos contra antígenos nucleares salino extraíbles (Sm, RNP, SS-A/Ro, SS-B/La, Jo-1, Scl-70)
- Anticuerpos contra el nucleolo.
- Anticuerpos contra histonas

La técnica de inmunofluorescencia sobre cortes de hígado permite reconocer diferentes patentes indicativas de los blancos de los autoanticuerpos:

Homogénea: contra nDNA, DNP o histonas.

Periférica: contra nDNA o histonas.

Moteada: contra Sm, nRNP, SS-A/Ro, SS-B/La, Scl-70 y otros.

Nucleolar: predominantemente contra el RNA nucleolar.

La patente antinucleolar se considera altamente significativa de esclerodermia y enfermedad de Sjogren. La patente periférica, que correspondería a DNA doble cadena, se observa generalmente en LES y se correlaciona con la severidad clínica. Sin embargo se recomienda el ensayo con *C. lucilae* para nDNA como ensayo para determinar la presencia de anticuerpos anti-nDNA.

La patente homogénea se observa también en LES, pero también frecuentemente en artritis reumatoidea con valores altos de factor reumatoideo. Es la patente más comúnmente observada en enfermedades del tejido conectivo.

La patente moteada aparece en la enfermedad mixta del tejido conectivo, en el LES y también es frecuente en la enfermedad de Sjogren y esclerodermia.

AMA: Los anticuerpos antimitocondriales (AMA) reaccionan contra la membrana interna de las mitocondrias y se han detectado en pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP). La CBP es una enfermedad crónica progresiva caracterizada por la destrucción de los conductos biliares intrahepáticos, inflamación portal y fibrosis con eventual desarrollo de cirrosis e insuficiencia hepática. Se trata generalmente de mujeres de mediana edad, con hepatomegalia, fatiga y laboratorio compatible con colestasis. El 95% de los pacientes con CBP presentan anticuerpos AMA positivos. En la CBP los anticuerpos AMA suelen aparecer antes que la insuficiencia hepática. Los AMA también se observaron en 25-28% de pacientes con hepatitis crónica activa y en 25-30% de pacientes con cirrosis.

La patente característica AMA incluye fluorescencia positiva en citoplasma de las células parietales gástricas y túbulos renales distales y proximales. En los cortes de tiroides se observa tinción en las células epiteliales que recubren los folículos tiroideos. **Siempre que se encuentra fluorescencia en las células parietales gástricas, se debe verificar la presencia de fluorescencia en los túbulos renales, ya que esta asociación es característica de CBP.**

Se describieron nueve anticuerpos contra mitocondrias (M1 a M9) con distinto significado clínico y

dirigidos contra la membrana interna o externa de las mitocondrias. No es posible por IFI, diferenciar los anticuerpos dirigidos contra los diferentes antígenos M1 a M9.

-Los anticuerpos anti LKM (anticuerpos contra microsomas de hepatocitos y células de los túbulos renales) se encontraron en una forma de hepatitis crónica activa autoinmune. Presentan intensa fluorescencia en los hepatocitos y en la tercera porción de los túbulos proximales y negatividad en los túbulos distales del riñón de rata. Los anticuerpos en estos pacientes reaccionan contra una proteína de 50Kda que se encuentra en el retículo endoplásmico liso y rugoso de estas células.

ASMA

Los anticuerpos dirigidos contra el músculo liso (ASMA) reaccionan con distintos antígenos como: actina, miosina, meromiosina, tropomiosina y filamentos intermedios como la vimentina, presentes no solamente en el músculo liso de estómago, sino en otros tejidos, lo que explica la fluorescencia en el tejido muscular liso (capas musculares del estómago y muscularis mucosae) de vasos, glomérulo renal y eventualmente canalículos biliares. Los ASMA son positivos en el 3% de la población adulta, títulos elevados mayores o iguales a 1/160 se encuentran en el 97% de las hepatitis crónicas autoinmunes. Los ASMA se observan también con menos frecuencia en uveítis, hepatitis tóxica, alopecia, enfermedad alcohólica del hígado, hipertensión pulmonal idiopática, hepatitis aguda y otras virosis (como mononucleosis).

Desde que los ASMA fueron identificados por primera vez por IFI, los antígenos blanco fueron caracterizados en tres grupos de filamentos del citoesqueleto:

- a) Microfilamentos 6 nm: microfilamentos conteniendo actina.
- b) Filamentos intermedios 10 nm: vimentina, desmina, citoqueratina y otros.
- c) Microtúbulos 25 nm: tubulina, aparato huso mitótico y otros.

APCA

Los anticuerpos dirigidos contra las células parietales gástricas (APCA) y el factor intrínseco están asociados con la gastritis autoinmune tipo A (gastritis atrófica crónica) y la anemia perniciosa en alrededor del 90% de los pacientes, por lo cual se utilizan como herramienta en el diagnóstico de estas enfermedades.

Los anticuerpos APCA son frecuentemente hallados en otras patologías autoinmunes, como en la tiroiditis y la diabetes mellitus insulino dependiente y en pacientes normales. La asociación de fluorescencia citoplasmática en túbulos renales y células parietales gástricas son de alta especificidad para el diagnóstico de la Cirrosis Biliar Primaria.

El equipo IFIFLUOR MULTITEST FAN-AMA-ASMA emplea la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de auto-anticuerpos séricos. El suero del paciente en una dilución adecuada, se enfrenta con las improntas que contienen un sustrato antigénico de cortes combinados de hígado-estómago-riñón. Los anticuerpos específicos, si están presentes, se unen al sustrato antigénico. Luego de lavar para eliminar los componentes no unidos, los anticuerpos unidos reaccionan con la antigamma globulina marcada con FITC. Un segundo lavado elimina los elementos no unidos. Finalmente, luego de montados y cubiertos con cubreobjetos, se observa la fluorescencia bajo microscopio de fluorescencia.

5) RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

1. RECONSTITUCION DEL BUFFER FOSFATO SALINO (BFS) Disolver el sobre del buffer en 1 litro de agua destilada. Conservar en la heladera hasta 4 semanas.

2. DILUCION DE LAS MUESTRAS: El suero debe ser diluido 1/20. Por ejemplo 0,1ml de suero en 1,9 ml de buffer BFS. De ser necesario titular, hacer las diluciones con buffer BFS. **NO DILUIR LOS CONTROLES DEL EQUIPO, SON LISTOS PARA USAR**

3. PREPARACION DE LAS IMPRONTAS:

- A) Retirar los portaobjetos del envase, dejar secar a temperatura ambiente o con secador de cabello.
- B) Sembrar los sueros controles positivos, negativos y muestras a procesar. Precaución de no tocar con la pipeta las áreas reactivas, dejando caer suavemente la gota de la dilución sobre el área reaccionante.

4. INCUBACION: Incubar 20 minutos a temperatura ambiente (18-25°C), en una cámara húmeda tapada para evitar la evaporación de las muestras.

5. LAVADO: Sacar los portaobjetos y lavarlos con abundante BFS derramando con una pipeta el líquido directamente sobre cada área para evitar la contaminación entre las mismas. Sumergir los portaobjetos 5 minutos en BFS en un frasco tipo Coplin agitando suavemente. Retirar el BFS y reemplazarlo por BFS fresco, dejarlo reposar 5 minutos más. El lavado puede prolongarse más tiempo sin afectar los resultados.

6. INCUBACION CON ANTIGAMMA GLOBULINA HUMANA MARCADA CON ISOTIOCIANATO DE FLUORESCINA. (diluir la previamente con BFS según rótulo). Sacar los portaobjetos del baño con BFS. Secar con papel de filtro entre las áreas y cubrirlas con la ANTIGAMMA. Incubar a temperatura ambiente 20 minutos. **La cámara húmeda debe estar tapada para evitar la evaporación de la antigamma.**

7. LAVADO: Repetir paso 5.

8. MONTAJE: Sacudir suavemente los portaobjetos sobre papel de filtro. Secar entre las áreas con el papel de filtro cuidando de no tocar las áreas reactivas. Montar con cubreobjetos escrupulosamente limpios y con una gota de medio de montaje. Cubrir los portaobjetos suavemente evitando la formación de burbujas que dificultan la lectura.

9. LECTURA: Leer en lo posible dentro de las primeras horas. Se pueden conservar en heladera 2-8°C por algunos días sellando los bordes del cubreobjeto con esmalte de uñas.

6) INSTRUCCIONES PARA SU CONSERVACION:

Inmediatamente de recibir el equipo guardar las improntas en freezer a -20°C y el resto del equipo en heladera de 2-8°C.

7) FORMA DE PRESENTACION:

Equipos de 20, 40 y 60 determinaciones.

8) COMPOSICION, DESCRIPCION CUALI-CUANTITATIVA DE LOS COMPONENTES. INDICACIONES ACERCA DE LA PREPARACION DE LOS COMPONENTES EN CASO DE NO SER LISTOS PARA USO

MATERIALES PROVISTOS

Según sean 20, 40 o 60 determinaciones:	20 det.	40 det.	60 det
Portaobjetos de 6 áreas reactivas (4 det + 2 controles)	5	10	15
Antigamma globulina humana marcada con FITC	0.10 ml	0.15 ml	0.20 ml
Sobre de buffer fosfato salino pH 7,2 ± 0.2 para reconstituir a 1 litro	1	2	3
Suero humano control positivo listo para usar	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml
Suero humano control negativo listo para usar	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml
Medio de montaje	3 ml	5 ml	5 ml
Cubreobjetos (opcional)	5	10	15
Instrucciones de uso	1	1	1

1. RECONSTITUCION DEL BUFFER FOSFATO SALINO (BFS) Disolver el sobre del buffer en 1 litro de agua destilada. Conservar en la heladera hasta 4 semanas.

2. DILUCION DE LA ANTI-GAMMA GLOBULINA HUMANA: Diluir el volumen a utilizar en BFS de acuerdo a la dilución recomendada en el rótulo del frasco.

MATERIALES REQUERIDOS , NO PROVISTOS

- Agua destilada para preparar el BFS
- Tubos de ensayo para las diluciones de muestras y la anti gamma
- Gradillas adecuadas
- Pipetas de 5 ml, pipetas automáticas
- Cámara húmeda o placas de Petri con papel embebido en agua destilada
- Frascos tipo Coplin
- Cronómetro
- Microscopio de fluorescencia equipado para observar fluoresceína

9) MUESTRAS A EMPLEAR . CONDICIONES DE OBTENCION DE LA MISMA.

Se debe emplear suero, no usar muestras lipémicas, hemolizadas o contaminadas. Si no se procesarán inmediatamente los sueros, se pueden conservar congelados a -20°C por un tiempo prolongado. PRECAUCION: Evitar los ciclos de congelamiento-descongelamiento de las muestras.

10) CALCULO DE RESULTADOS. UNIDADES DE EXPRESION. ORIGEN DE LOS PATRONES UTILIZADOS O DE SU EQUIVALENCIA EN ESTANDARES INTERNACIONALES

Los resultados se expresan como positivos (fluorescencia verde manzana) o negativos (no fluorescentes). Pudiendo titularse para evaluación de tratamiento o incremento o declinación de la enfermedad.

ANTICUERPOS ANTI-NUCLEO (FAN-ANA):

- a) Patente Homogénea: El núcleo se tiñe totalmente observándose áreas de fluorescencia más intensa. Esta patente sugiere anticuerpos dirigidos contra DNA e Histonas.
- b) Patente Periférica: El núcleo se tiñe especialmente en la periferia. A veces se asocia con fluorescencia homogénea del resto del núcleo. Sugiere anticuerpos contra DNA.
- c) Moteada: Se observan numerosos pequeños o medianos puntos de fluorescencia repartidos en el

núcleo. A veces varios puntos se unen para dar "gotas" de mayor tamaño. Se debe prestar atención de no confundir con anticuerpos anti-nucleolo. Sugieren anticuerpos contra Sm, SS-B y otros antígenos menos específicos.

d) Nucleolar: Se observa intensa tinción de los nucleolos. En general se ven no más de 2 o 3 bien nítidos e intranucleares.

ANTICUERPOS ANTI-MITOCONDRIALES:

Se observa positividad en el citoplasma de las células parietales y túbulos renales. Evitar de confundir con la fluorescencia superficial del borde del túbulo (borde en cepillo).

ANTICUERPOS ANTI-MUSCULO LISO:

Se observa fluorescencia bien nítida entre las glándulas gástricas, mucularis mucosa, muscular gástrica, capa muscular de las arterias, glomérulo y frecuentemente entre los hepatocitos. En estómago evitar confundir con la reticulina que se tiñe también entre las glándulas y tiñe la submucosa.

ANTI CELULAS PARIETALES GASTRICAS:

Se observan intensamente teñidas las células parietales gástricas. Observar siempre riñón, pues si los túbulos están teñidos, la patente es mitocondrial y suele corresponder a Cirrosis Biliar Primaria. Si sólo están teñidas las células parietales es útil siempre ver tiroides, pues es común la asociación de tiroiditis y gastritis autoinmune.

Los equipos IFIFLUOR están estandarizados y chequeados contra preparaciones de referencia para autoanticuerpos del Center for Diseases Control (CDC) de Atlanta, EEUU.

11) INTERVALO DE NORMALIDAD O INTERVALO TERAPEUTICO:

El título empleado para los sueros hace que solamente se visualice fluorescencia en los sueros positivos.

12) DESCRIPCION DE LAS CARACTERISTICAS DEL SISTEMA: SENSIBILIDAD, PRECISION, EXACTITUD, ESPECIFICIDAD, POTENCIA, ESTABILIDAD.

Sensibilidad: Desde los primeros trabajos de Coons se reconoce que la técnica de inmunofluorescencia tiene una alta sensibilidad para detectar anticuerpos. Sin embargo la sensibilidad puede ser afectada por una variedad de factores externos (tipo de microscopio, intensidad de la lámpara y su tiempo de uso, sistema de filtros, la aptitud del observador, etc). Desde los primeros trabajos de Coons se reconoce que la técnica de inmunofluorescencia tiene una alta sensibilidad para detectar anticuerpos. Sin embargo la sensibilidad puede ser afectada por una variedad de factores externos (tipo de microscopio, intensidad de la lámpara y su tiempo de uso, sistema de filtros, la aptitud del observador, etc.).

Si bien tanto ANA, ASMA y AMA pueden ser detectados en células Hep-2, se recomienda utilizar cortes de tejido para ASMA y AMA debido a su mayor sensibilidad. Por el contrario, la patente centromérica de ANA, sólo puede detectarse en células Hep-2.

Precisión: Se han realizado repeticiones de el ensayo para una serie de 10 sueros positivos, de diferentes títulos, incluyendo positivos débiles y fuertes. En ningún caso los resultados difirieron en más de un título, tanto intraensayo como interensayo.

Especificidad: Se han testeado sueros positivos para diferentes patologías autoinmunes y parasitarias, obteniéndose en todos los casos resultados negativos.

La intensidad de la fluorescencia, así como el punto final de la titulación es afectada por el equipamiento utilizado (desgaste de la lámpara, óptica del microscopio, etc.). Consulte a nuestro Laboratorio por los controles titulables que permiten verificar y estandarizar los resultados de fluorescencia.

Estabilidad: Conservando el equipo en las condiciones especificadas, el material no sufre deterioro dentro del plazo de actividad fijado. La anti-gamma diluída no debe reutilizarse y debe ser preparada fresca en cada ensayo. El buffer BFS es estable durante 4 semanas a 2-8°C. Se recomienda filtrar el BFS reconstituido.

13) PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS SOBRE SU USO. LIMITACIONES DEL METODO, SUSTANCIAS INTERFERENTES, ETC.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS:

-Los componentes de suero humano utilizados en la preparación de los controles de este equipo han sido encontrados no reactivos para la presencia de antígeno de superficie de Hepatitis B (HBsAg), anticuerpos antiviral de inmunodeficiencia humana 1 y 2 (HIV-1+2) y Hepatitis C. Dado que ningún test diagnóstico puede ofrecer una seguridad absoluta acerca de la ausencia de los virus HIV, Hepatitis B u otros agentes infecciosos, las muestras y los reactivos basados en productos humanos deben ser tratados como potencialmente infectivos.

-No usar los reactivos contenidos en el equipo después de la fecha de vencimiento impresa en el equipo.

-Todas las incubaciones deben realizarse en cámara húmeda o en una placa de petri que contenga papel de filtro humedecido para evitar la evaporación de los reactivos.

-Se deben mantener húmedas las áreas reactivas durante toda la técnica (evitar cualquier técnica de

secado artificial como: secado al aire, con estufa y/o secadores). Después de los pasos de lavado, se recomienda remover el exceso de humedad con papel absorbente; secar los bordes laterales externos del portaobjetos y secar con cuidado entre las áreas, sin tocar las áreas reactivas.

-Algunos de los componentes de este equipo contienen azida de sodio como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo o el cobre de las cañerías, formando azidas metálicas explosivas. Cuando se descarten los reactivos, dejar fluir abundante agua para evitar la formación de estos compuestos.

-Nunca pipetear con la boca o permitir que muestras de pacientes entren en contacto con la piel.

-Todos los materiales usados en este ensayo, incluyendo los reactivos, muestras y materiales para limpieza deben ser descartados de manera que se inactiven los agentes infecciosos. Se recomienda utilizar en la descontaminación, hipoclorito de sodio al 1%, durante un tiempo igual o mayor a 30 minutos.

-La técnica indicada se desarrolla a temperatura ambiente, considerada como un rango de 18-25°C, las desviaciones de ese rango de temperatura producirán alteraciones en la performance de esta técnica, por ello se recomienda respetar ese rango de temperatura para las incubaciones.

-Sólo para uso diagnóstico in vitro.

LIMITACIONES

-El usuario del equipo debe leer cuidadosamente el inserto. El cumplimiento estricto del protocolo es indispensable para obtener resultados confiables. Ante cualquier duda comunicarse con nuestro Servicio de Asesoría Técnica.

-El exceso de lípidos en el suero a testear produce una reacción "filming" (película que encubre la reacción específica). No confundir con reacción positiva.

-La intensidad de la fluorescencia, así como el punto final de la titulación es afectada por el equipamiento utilizado (desgaste de la lámpara, óptica del microscopio, etc.). Consulte a nuestro Laboratorio por los controles titulables que permiten verificar y estandarizar los resultados de fluorescencia.

14) BIBLIOGRAFIA

-COONS AH, CREECH HJ, JONES RM, THE DEMONSTRATION OF NEUMOCOCCAL ANTIGEN IN

LISSIES BY THE USE OF FLUORESCENT ANTIBODY. J. IMMUNOL 1942, 45:159-170

-NAKAMURA RM, DEODHAR S. LABORATORY TESTS IN THE DIAGNOSIS OF AUTOIMMUNE DISORDERS. AM. SOC. CLIN. PATHOL, 1976, CHICAGO.

-SEPULVEDA C. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN LAS NEFERMEDADES DEL TEJIDO CONECTIVO. INMUNOLOGIA CLINICA 1987, 3:14-23

-TAN EM. AUTOANTIBODIES TO NUCLEAR ANTIGENS (ANA). THEIR IMMUNOBIOLOGY AND MEDICINE. ADV. IMMUNOL. 1982, 33:167-240.

-TAYLOR KB, ROITT IM. AUTOIMMUNE PHENOMENA IN PERNICIOUS ANEMIA: GASTRICV ANTIBODIES. BR. MED. J. 1962, 2: 1347.

-LE PETIT JC, LES ANTICORPS ANTI-CELLULE PARIETALE GRASTRIQUE DAN LES GASTRITES. LA NOUVELLE PRESSE MEDICALE 16 MAI 1981, 10, 22: 1799-1802.

-DONIACH DJ, THYROID AUTOIMMUNE DISEASE. J. CLIN. PATHOL. 1967, 20: 385-390.

-TUNG KS. ANTITHYROID ANTIBODIES IN JUVENILE LYMPHOCITIC THYROIDITIS. AM. J. CLIN. PATHOL. 1974, 61: 549-555.

-KATZ S, RADICI V, ROQUEL L. ANTICUERPOS SERICOS CONTRA MICROSOMAS DE HIGADO Y RIÑÓN. ARQ. GASTROENT. S. PAULO 1976, 13: 13-17.

-HOLMERC JC, STELLY N. A NEW ANTIMITOCHONDRIA ANTIBODY (ANTI M6) IN IPRONAZID INDUCED HEPATITIS. CLIN EXPER IMMUNOL 1982, 47:93-102.

-RIZZETO MD, DONIACH D. TYPES OF RETICULIN IN HUMAN SERA BY IMMUNOFLOURESCENCE. J. CLIN. PATH. 1973, 26: 841-858.

-VOLTA U Y COLAB. IGA ANTIENDOMYSIAL ANTIBODY TEST A STEP FORWARD IN COELIAC DISEASE SCREENING. DIGESTIVE DISEASE AND SCIENCE. 1991, 36: 752-756.

-CALABUIG M Y COL. SEROLOGICAL MARKERS AND CELIAC DISEASE: A NEW DIAGNOSTIC APPROACH. J. PEDRIATRIC GASTR. AND NUTRITION 1990, 10: 435-422.

-GABBIANI GB, Y COL. HUMAN SMOOTH MUSCLE ANTIBODIES. AM. J. PATHOL. 1973, 72: 473.

-BAKER JR. Y COL. DEVELOPMENT OF CIRCULATING ANTIHEART ANTIBODIES AS A RESULT OF CORONARY BYPASS SURGERY, 1986, 41: 507-510.

-COSSIO P, DIEZ C, SZARFMAN A, KERUTZER E, CANDIOLO B, ARANA R. CHAGASIC CARDIOPATHY. DEMONSTRATION OF A SERUM GAMMA FACTOR WHICH REACTS WITH ENDOCARDIUM AND VASCULAR STRUCTURE.

15) ESTABLECIMIENTO IMPORTADOR Y/O ELABORADOR. NOMBRE DEL DIRECTOR TECNICO, DOMICILIO LEGAL Y EN CASO DE PRODUCTOS IMPORTADOS TOTALMENTE TERMINADOS O FRACCIONADOS DEBERA CONSTAR EL ORIGEN DE ELABORACION (NOMBRE DE LA FIRMA Y DIRECCION)

Establecimiento elaborador: LABORATORIO IFI
Directora Técnica: Bioq. Liliانا Roquel
Domicilio Legal: Chile 523 (1603) Villa Martelli - Buenos Aires

16) LEYENDA “PRODUCTO DE DIAGNOSTICO AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD Y ACCION SOCIAL, NUMERO”

Producto de diagnóstico autorizado por el Ministerio de Salud y Acción Social Nro. 00481