



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

DISPOSICIÓN Nº

3713

BUENOS AIRES, 11 ABR 2016

VISTO el expediente Nº 1-47-3110-3530/15-0 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOARS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado 1) LYRA DIRECT HSV 1+2-VZV ASSAY/ ENSAYO PCR MÚLTIPLE EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA Y DIFERENCIACIÓN DEL ADN DE LOS VIRUS *herpes simplex tipo 1, herpes simplex tipo 2 y varicela-zoster*, AISLADO Y PURIFICADO DE MUESTRAS DE LESIONES CUTANEAS O MUCOCUTANEAS; 2) QUIDEL MOLECULAR HSV 1+2- VZV CONTROL SET/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON EL ENSAYO LYRA DIRECT HSV 1+2-VZV ASSAY .

Que a fojas 287 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

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

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley Nº 16.463, Resolución Ministerial Nº 145/98 y Disposición ANMAT Nº 2674/99.



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

DISPOSICIÓN Nº 3713

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos Nº 1490/92 el por el Decreto Nº 101/15 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso in Vitro denominado 1) LYRA DIRECT HSV 1+2-VZV ASSAY/ ENSAYO PCR MÚLTIPLE EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA Y DIFERENCIACIÓN DEL ADN DE LOS VIRUS *herpes simplex tipo 1, herpes simplex tipo 2 y varicela-zoster*, AISLADO Y PURIFICADO DE MUESTRAS DE LESIONES CUTÁNEAS O MUCOCUTÁNEAS; 2) QUIDEL MOLECULAR HSV 1+2- VZV CONTROL SET/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON EL ENSAYO LYRA DIRECT HSV 1+2-VZV ASSAY , el que será elaborado por QUIDEL CORPORATION. 2005 East State Street Suite 100, Athens, OH 45701. (USA) e importado terminado por la firma BIOARS S.A., en envases por: 1) 96 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: SOLUCIÓN DE REHIDRATACIÓN (1 vial x 1.9 ml), MASTER MIX DE HSV 1 + 2 - VZV LYRA DIRECT (12 viales), SOLUCIÓN TAMPÓN DE PROCESO (2 viales x 1.5 ml); 2) CONTROL POSITIVO HSV 1 + 2 - VZV (1 vial x 1.1 ml) y CONTROL NEGATIVO (1



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

DISPOSICIÓN N° 3713

vial x 1.1 ml), con una vida útil de 1) y 2) DOCE (12) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2-8 °C, y que la composición se detalla a fojas 43 y 264.

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 79 a 131, 134 a 187, 190 a 259 y 265 a 279. Desglosándose fojas 83 a 85, 88 a 131, 134 a 147 y 278 a 279 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MEDICA se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese, gírese a la Dirección de Gestión de información Técnica a sus efectos, por Mesa de Entradas de la Dirección Nacional de Productos Médicos notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

EXPEDIENTE N° 1-47-3110-3530/15-0

DISPOSICIÓN N°:

Fd

3713

DR. ROBERTO LEBE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

PROYECTO DE ROTULOS EXTERNOS

Nombre del producto:

1) Lyra Direct HSV 1+2/VZV Assay

5713

Caja del kit

LyraTM Direct HSV 1+2/VZV ASSAY

11 ABR 2016

CONT

Σ 96

96 reactions/kit

Rehydration Solution	1 vial/kit 1.9 mL
HSV 1+2 / VZV Master Mix	12 vials/kit, 8 reactions/vial
Process Buffer	2 vials/kit 1.5 mL

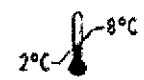


A real-time PCR test for the qualitative detection and identification of herpes simplex virus 1 and 2 and varicella zoster virus viral DNA.

Rx ONLY



IVD



REF M102

Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

M0045D (09/14)

REF M102

LyraTM Direct HSV 1+2 / VZV

Quidel Corporation
Athens, OH 45701 USA

LQT 000000A **YYYYMONDD**



Lyra Direct HSV 1+2/VZV Assay / Quidel Molecular HSV 1+2/VZV Control Set. Producto Diagnostic Hybrids, Inc.

[Handwritten signature]


[Handwritten signature]
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

2) Quidel Molecular HSV 1+2 / VZV Control Set






3713




Quidel Molecular HSV 1+2/VZV Control Set

CONT 


HSV 1+2/VZV Positive Control 1 vial/kit 1.1 mL
HSV 1+2/VZV Negative Control 1 vial/kit 1.1 mL

   **IVD**

Controls for use with molecular testing

REF M121
LOT SAMPLE
 **EXP** 2014OCT21  8°C
2°C  Temperature Limitation

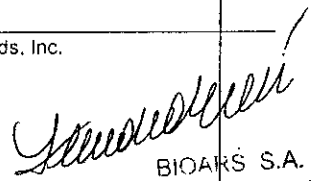
CE

 Quidel Corporation
Athens, OH 45701 USA

Establecimiento Elaborador: QUIDEL CORPORATION. 2005 E State St Suite 100, Athens, OH USA 45701.
Establecimiento Importador: BIOARS S.A. - Santo Domingo 2578/80 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. Certificado N°.....

E

Lyra Direct HSV 1+2/VZV Assay / Quidel Molecular HSV 1+2/VZV Control Set. Producto Diagnostic Hybrids, Inc.


BIOARS S.A.
BIOQ CLAUDIA E. ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO



ORIGINAL

13713

PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

Nombre del producto:

1) Lyra Direct HSV 1+2/VZV Assay

Solución de rehidratación	Master Mix de HSV 1 + 2/VZV Lyra Direct	Solución Tampón de proceso

2- Quidel Molecular HSV 1+2 / VZV Control Set

Control Positivo HSV 1+2 / VZV	Control Negativo

Establecimiento Elaborador: QUIDEL CORPORATION. 2005 E State St Suite 100, Athens, OH USA 45701.
 Establecimiento Importador: BIOARS S.A. – Santo Domingo 2578/80 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. Certificado N°...

Lyra Direct HSV 1+2/VZV Assay / Quidel Molecular HSV 1+2/VZV Control Set. Producto Diagnostic Hybrids, Inc.

E

BIOARS S.A.
BIOQUÍMICA CLAUDIA E. ETCHÉVÉS
DIRECTOR TÉCNICO



QUIDEL

Set de Control HSV 1+2/VZV Quidel Molecular Positivo y Negativo



3773



USO PREVISTO

El uso previsto del Set de Control HSV 1+2/VZV Quidel Molecular es como control total de procesos en análisis moleculares. Este Set de Control no ensayado para uso diagnóstico *in vitro* está compuesto por una mezcla de virus que incluye HSV-1, HSV-2 y VZV. El control negativo es matriz libre de HSV-1, HSV-2 y VZV.

INSTRUCCIONES DE USO

Se debe utilizar el Control de HSV 1+2/VZV Quidel Molecular con el mismo volumen que las muestras problema en una metodología de prueba molecular validada.

MATERIALES PROVISTOS

Cat # M121

Kit de Control (2 viales) – Almacenar a 2° hasta 8°C

#	Componente	Cantidad
CONTROL +	Control Positivo HSV 1+2/VZV Parte M5047	1 vial/kit 1.0 mL por vial
CONTROL -	Control Negativo, Parte M5135	1 vial/kit 1.0 mL

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Trate todos los especímenes, muestras y controles como potencialmente infecciosos. Siga precauciones universales cuando manipule muestras, este kit y sus contenidos.

Utilice ropa de protección, guantes, protección facial y ocular apropiados al usar este kit. Evite el contacto con piel y ojos.

Utilice micropipetas con puntas resistentes a aerosoles o descartables para todos los procedimientos. Evite la contaminación microbiana y cruzada de los reactivos del kit. Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio.

Los controles contienen Azida Sódica 0.09%. No vacíe estos controles en el desagüe. Deseche los contenedores de forma segura.

La adecuada recolección, almacenamiento y transporte de muestras es esencial para la obtención de resultados correctos.¹

Almacene los reactivos del ensayo como se indica en las etiquetas individuales.

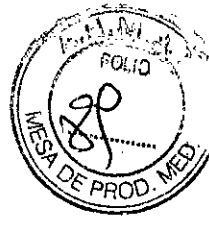
La ficha de datos de seguridad de materiales está disponible previa solicitud, o se puede acceder a la misma en la página web el producto.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE REACTIVOS DEL KIT

Almacene el kit entre 2° y 8°C hasta la fecha de vencimiento que se encuentra en las etiquetas.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles incluidos en el Set de Control HSV 1+2/VZV Quidel Molecular son controles no ensayados. Los rangos de control pueden variar según el método de análisis. Se debe determinar un rango específico para cada método de análisis deseado. Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de Control de Calidad y frecuencias de análisis de Control de Calidad en base a leyes y reglamentaciones locales aplicables y a las buenas prácticas generales de laboratorio estándar.



3793

LIMITACIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Este control ha sido estudiado utilizando una metodología de análisis molecular; no se prevé su uso con otras metodologías.

ASISTENCIA AL CLIENTE Y ASISTENCIA TÉCNICA

Para hacer un pedido o solicitar servicio técnico, contacte a un representante de Quidel llamando al (800) 874-1517 (en EE. UU.) o al (858) 552-1100 (fuera de los EE. UU.), de lunes a viernes de 8:00a.m. a 5:00p.m. hora de la costa este de EE. UU. También pueden realizarse pedidos por fax al (740) 592-9820. Para solicitar asistencia por correo electrónico, envíe mensaje a custserv@quidel.com o technicalsupport@quidel.com. Para obtener asistencia fuera de los EE. UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Puede obtener información adicional sobre Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores en el sitio web: quidel.com.

REFERENCIAS

1. CLSI MM13-A: Guidance for the Collection, Transport, Preparation and Storage of Specimens for Molecular Methods (Vol. 25, No. 31) (Dec 2005).

REF

M121 – Set de Control HSV 1+2/VZV Quidel Molecular

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany






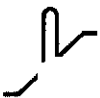



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

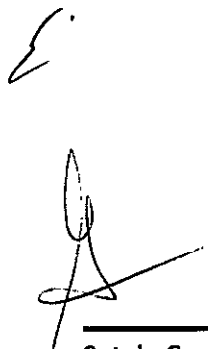
[Handwritten signature]

PIM121000ES00 (05/15)

[Handwritten signature]
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVERE
DIRECTOR TÉCNICO

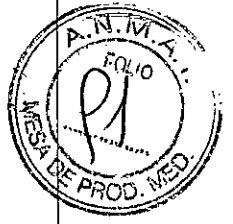
GLOSARIO

REF Número del catálogo	 Marca CE de conformidad
EC REP Representante Autorizado en la Comunidad Europea	LOT Código de lote
 Usar antes de	 Fabricante
 Limites de temperatura	 Uso Previsto
 Riesgos biológicos	 Consulte etiquetado electrónico para instrucciones de uso
CONT Contenido / Contiene	IVD Para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
CONTROL + Control Positivo	CONTROL - Control Negativo



Claudia Etcheves
BIOARS S.A.
BIOG. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

371



INDICACIÓN AL CONSUMIDOR

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S. A. pone a disposición del Cliente.

Establecimiento Elaborador: QUIDEL CORPORATION.
2005 E State St Suite 100, Athens, OH USA 45701.
Establecimiento Importador BIOARS S.A. - Santo Domingo 2578/80 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica-
Matrícula Nacional N° 7028.
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T.
PM-1127-227

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVES
DIRECTOR TÉCNICO



Lyra™ Direct
ENSAYO HSV 1+2/VZV

3713
ORIGINAL



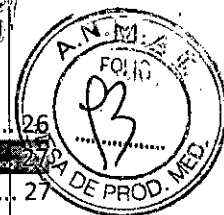
Para la detección cualitativa y la identificación del virus herpes simplex tipo 1 y 2 y del virus varicella zoster en muestras de hisopado de lesiones cutáneas o mucocutáneas

PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

R_x ONLY

ÍNDICE

Uso previsto	2
Resumen y Explicación	3
Principio del Procedimiento	3
Materiales Provistos	4
Materiales Necesarios pero no Provistos	5
Advertencias y Precauciones	5
Almacenamiento y Manipulación de Reactivos del Kit	6
Recolección, Almacenamiento y Manipulación de Muestras	6
Almacenamiento de Muestras Preparadas	6
<u>Programación Inicial del Termociclador para la detección e identificación de HSV.1 + 2/VZV</u>	<u>7</u>
Instrucciones de Programación de Life Technologies QuantStudio™ Dx	7
Instrucciones de Programación de Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	7
Instrucciones de Programación del Sistema Cepheid SmartCycler® II	9
<u>Programación Inicial del Termociclador para la detección e identificación de HSV 1 + 2</u>	<u>12</u>
Instrucciones de Programación de Life Technologies QuantStudio™ Dx	12
Instrucciones de Programación de Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	13
Instrucciones de Programación del Sistema Cepheid SmartCycler® II	15
<u>Programación Inicial del Termociclador para la detección de VZV</u>	<u>18</u>
Instrucciones de Programación de Life Technologies QuantStudio™ Dx	18
Instrucciones de Programación de Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	18
Instrucciones de Programación del Sistema Cepheid SmartCycler® II	20
Procedimiento del Ensayo	23
Procedimiento de Preparación de Muestras	23
Procedimiento de Rehidratación del Master Mix	23
Procedimiento de Configuración de PCR de HSV 1 + 2/VZV	24
<u>Protocolo de Amplificación para la detección e identificación de HSV 1 + 2/VZV</u>	<u>24</u>
Protocolo de Amplificación en Life Technologies QuantStudio™ Dx	24
Protocolo de Amplificación en Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	25

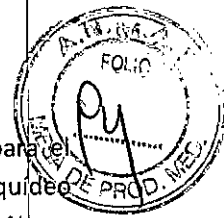


Protocolo de Amplificación en el Sistema Cepheid SmartCycler® II	26
Protocolo de Amplificación para la detección e identificación de HSV-1 + 2	27
Protocolo de Amplificación en Life Technologies QuantStudio™ Dx	27
Protocolo de Amplificación en Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	28
Protocolo de Amplificación en el Sistema Cepheid SmartCycler® II	29
Protocolo de Amplificación para la detección de VZV	30
Protocolo de Amplificación en Life Technologies QuantStudio™ Dx	30
Protocolo de Amplificación en Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	31
Protocolo de Amplificación en el Sistema Cepheid SmartCycler® II	32
Interpretación de Resultados	33
Interpretación de Resultados utilizando Life Technologies QuantStudio™ Dx	33
Interpretación de Resultados utilizando Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	33
Interpretación de Resultados utilizando el Sistema Cepheid SmartCycler® II	34
Control de Calidad	35
Limitaciones	36
Valores Esperados	36
Life Technologies QuantStudio™ Dx	36
Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	37
Cepheid SmartCycler® II System	38
Rendimiento Clínico	39
Life Technologies QuantStudio™ Dx	40
Lesiones Cutáneas	40
Lesiones Mucocutáneas	41
Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	42
Lesiones Cutáneas	42
Lesiones Mucocutáneas	43
Sistema Cepheid SmartCycler® II	44
Lesiones Cutáneas	44
Lesiones Mucocutáneas	45
Rendimiento Analítico	46
Nivel de Detección	46
Precisión – Repetibilidad	47
Reactividad Analítica (Inclusividad)	48
Estudio de Reproducibilidad	49
Especificidad Analítica – Reactividad cruzada e interferencia de Microorganismos	51
Especificidad Analítica – Reactividad cruzada e interferencia de Sustancias	53
Estudios de Arrastre y Contaminación Cruzada	54
Asistencia al cliente y Asistencia Técnica	48
Referencias	54
GLOSARIO	55

USO PREVISTO

El Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV es un análisis PCR múltiple en tiempo real *in vitro* para la detección cualitativa y diferenciación del ADN de los virus *herpes simplex* tipo 1, *herpes simplex* tipo 2, y *varicella-zoster*, aislado y purificado de muestras de lesiones cutáneas o mucocutáneas obtenidas de pacientes sintomáticos con sospecha de tener una infección activa de virus herpes simplex 1, herpes simplex 2 y/o varicella-zoster. Se prevé el uso del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV como ayuda en el diagnóstico de los virus *herpes simplex* tipo 1, *herpes simplex* tipo 2, y *varicella-zoster* con infecciones cutáneas o mucocutáneas activas. Los resultados negativos no descartan la infección con los virus *herpes simplex* tipo

3713



1, herpes simplex tipo 2, y varicella-zoster y no se lo debe utilizar como el único fundamento para el diagnóstico, tratamiento u otras decisiones administrativas. No se prevé su uso con líquido cefalorraquídeo o como ayuda para el diagnóstico de infecciones del sistema nervioso central (SNC) por HSV o VZV. No se prevé el uso del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV para uso en cribado prenatal. El dispositivo no está previsto para uso en puntos de atención al paciente.

Advertencia: No se prevé el uso del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV con líquido cefalorraquídeo o como ayuda para el diagnóstico de infecciones del sistema nervioso central (SNC) por HSV o VZV. No se prevé el uso del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV para uso en cribado prenatal.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

HSV-1 y HSV-2: Los virus herpes simplex tipo 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), también conocidos como Virus Herpes Humano tipos 1 y 2 (HHV-1 y HHV-2), son virus ADN de la familia Herpesviridae. Las infecciones de HSV en seres humanos pueden causar lesiones en una variedad de sitios cutáneos y mucocutáneos. Estas lesiones pueden resultar de la infección primaria del virus o de la reactivación del virus latente, ocasionando episodios recurrentes de la enfermedad. Los virus HSV-1 y HSV-2 son genética y antigénicamente formas distintas de HSV. El HSV-2 es la causa más común de infecciones genitales, debido a transmisión venérea; el HSV-1 se asocia comúnmente a otras localizaciones de la enfermedad, aunque se ha demostrado que ambos serotipos causan enfermedad en todo el cuerpo. Se ha probado mediante estudios la creciente prevalencia de infecciones de HSV genitales con un correspondiente incremento de la enfermedad en recién nacidos.

VZV: El virus Varicella-zóster (VZV), también conocido como Virus Herpes Humano tipo 3 (HHV-3), es un virus ADN de la familia Herpesviridae. La infección primaria de VZV ocasiona varicela (varicella), lo que puede resultar en raras ocasiones en complicaciones que incluyen encefalitis o neumonía. Aun cuando se hayan resuelto los síntomas clínicos de la varicela, el virus VZV permanece latente en el sistema nervioso de la persona infectada (latencia viral). En aproximadamente el 10-20% de los casos, el virus VZV se reactiva más adelante produciendo herpes zóster. Las complicaciones graves del herpes zóster incluyen neuralgia postherpética, zoster multiple, mielitis, herpes zóster oftálmico u ophthalmicus, o zoster sine herpette.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

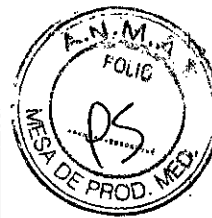
El ensayo detecta ácidos nucleicos virales de la muestra del paciente. Se realiza una reacción PCR [reacción en cadena de la polimerasa] multiplex en tiempo real en condiciones optimizadas en un único tubo o bien generando amplicones para HSV-1, HSV-2, VZV, y el control de proceso (PRC). La identificación de HSV-1, HSV-2, VZV, y el PRC ocurre mediante el uso de cebadores específicos para el objetivo y sondas con etiquetado fluorescente que hibridizan a regiones conservadas en los genomas de HSV-1, HSV-2, VZV y el PRC.

Etiquetas de Sondas Lyra™ Direct	
Diana	Colorante
HSV-1	FAM
HSV-2	CAL Fluor® Orange 560
VZV	CAL Fluor® Red 610
PRC	Quasar® 670

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
BIOARKS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVEZ
DIRECTOR TECNICO

3715



A continuación, un resumen del procedimiento:

1. **Recolección de Muestras:** Obtener hisopado de la lesión utilizando técnicas estándar de pacientes sintomáticos. Transportar, almacenar y procesar estas muestras de conformidad con procedimientos establecidos de laboratorio.¹

2. **Preparación de Muestras:** Extraer 100 µL de cada muestra clínica del tubo de recolección original. Calentar a 60°C durante 5 minutos. Sacar del calor y añadir 25 µL de la Solución Tampón de Proceso dentro de los 60 minutos de acuerdo con las detalladas instrucciones, utilizando los reactivos apropiados (ver Materiales Necesarios pero No Provistos). La Solución Tampón de Proceso contiene una solución tampón y diluyentes, así como también el PRC.

El PRC sirve para monitorear inhibidores en la muestra preparada, asegura que haya ocurrido una adecuada amplificación, y confirma que se ha realizado correctamente el proceso en general.

3. **Rehidratación de Master Mix:** Rehidratar el Master Mix liofilizado utilizando 135 µL de la Solución de Rehidratación. El Master Mix contiene cebadores de oleonucleótidos, fluorocromo, y sondas con "quencher" [inhibidores de fluorescencia] con diana en regiones conservadas de HSV-1, HSV-2, y VZV, así como también del PRC.

4. **Amplificación y Detección de Ácidos Nucleicos:** Añadir 15 µL del Master Mix rehidratado a cada tubo de reacción o pocillo de placa. Luego añadir 5 µL de ácidos nucleicos (muestra con PRC) al pocillo de placa o el tubo de reacción adecuadamente etiquetado. Colocar la placa o el tubo ya sea en cualquiera de los instrumentos de QuantStudio Dx, 7500 Fast Dx o SmartCycler II, respectivamente.

Una vez que el tubo de reacción o la placa se colocan en el instrumento, inicie el protocolo del ensayo. Este ensayo inicia la amplificación de los amplicones del ADN diana. El ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV se basa en químicos TaqMan® y emplea una enzima con actividad polimerasa de ADN y de exonucleasa 5'-3'. Durante la amplificación de ADN, esta enzima rompe la sonda unida a la secuencia ADN complementaria separando el colorante "quencher" [inhibidor de fluorescencia] del colorante "reporter" [reportero]. Este paso genera un aumento en la señal fluorescente cuando son excitados por fuente de luz a la longitud de onda adecuada. Con cada ciclo, se separan más moléculas de colorante de sus quenchers, redundando en un aumento de la señal. Si se consigue suficiente fluorescencia en Life Technologies QuantStudio™ Dx, Applied Biosystems® 7500 Fast Dx, o el Sistema Cepheid SmartCycler® II, la muestra se informa como positiva por el ácido nucleico detectado.

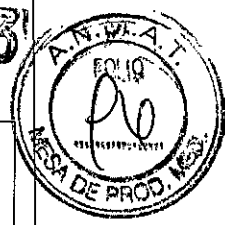
MATERIALES PROVISTOS

SKU # M102

Kit de Detección (96 Reacciones) – Almacenar a 2°C hasta 8°C

#	Componente	Cantidad
1	Solución de Rehidratación Parte M5003	1 vial/kit, 1,9 mL

3713



2	Master Mix de HSV 1 + 2/VZV Lyra™ Direct Parte M5012 Contenido Liofilizado: Enzima ADN polimerasa Cebadores y sondas dNTPs Estabilizadores	12 viales/kit, 8 reacciones/vial
CONTROL	Solución Tampón de Proceso Parte M5050	2 viales/kit 1,5 mL cada uno

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS

- Controles positivos de HSV-1, HSV-2 y VZV (es decir, muestras de pacientes positivos en HSV-1, HSV-2 o VZV; o el Set de Control de Quidel Molecular HSV1/2+VZV #M109 que sirve como control externo de ensayo).
- Micropipetas (entre 2 a 20 µL, y 20 a 200 µL)
- Puntas de pipeta con barrera anti-aerosol
- Life Technologies QuantStudio™ Dx con software versión 1.0 o posterior
- Applied Biosystems® 7500 Fast Dx con software versión 1.4
- Placa de 96 pocillos para PCR para Fast Dx de Applied Biosystems
- Películas de placa de claridad óptica
- Centrifugadora de placa correspondiente a placa ABI de 96 pocillos
- Bloque térmico en seco, con capacidad para calentar tubos de 1,5 mL a 60°C durante 5 minutos.

O

- Micropipetas (entre 2 a 20 µL, y 20 a 200 µL)
- Puntas de pipeta con barrera anti-aerosol
- Cepheid SmartCycler® II con software versión 3.0b
- Descartables para SmartCycler
- Centrifugadora SmartCycler
- Gradilla para tubo de reacción SmartCycler
- Bloque térmico en seco, con capacidad para calentar tubos de 1,5 mL a 60°C durante 5 minutos.
- Tubos vacíos para microcentrífuga

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Trate todas las muestras como si fueran potencialmente infecciosas. Siga las precauciones universales al manipular muestras, este kit y su contenido.
- La recolección, almacenamiento y transporte correctos de las muestras son esenciales para obtener resultados correctos.
- Almacene los reactivos del ensayo según se indica en las etiquetas individuales.
- Utilice ropa de protección, guantes y protección facial y ocular adecuados al utilizar este kit.
- Para obtener resultados precisos, deberá pipetear con cuidado utilizando únicamente equipo calibrado.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies con una solución de lavandina al 10%, seguida de agua de calidad para biología molecular.
- Utilice micropipetas con barrera anti-aerosoles o puntas de pipetas descartables para todos los procedimientos.
- Evite contaminación microbiana o contaminación cruzada de los reactivos del kit. Siga Buenas Prácticas de Laboratorio.
- No mezcle reactivos de kits con números de lote distintos.
- No utilice reactivos de otros fabricantes con este kit.
- No utilice el producto luego de su fecha de caducidad.

[Handwritten Signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO



3713

- Una planificación adecuada del flujo de trabajo es esencial para minimizar riesgos de contaminación. Siempre planifique el flujo de trabajo de su laboratorio de manera unidireccional, comenzado con la pre-amplificación y pasando luego a la amplificación y detección.
- Utilice suministros y equipos exclusivos en las áreas de pre-amplificación y amplificación.
- No permita que personal o equipo atraviesen áreas distintas.
- Mantenga los suministros de amplificación separados en todo momento de los suministros de pre-amplificación.
- No abra tubos de muestras ni abra placas ya selladas después de la amplificación.
- Deseche el material amplificado con cuidado y conforme a las normativas y leyes locales a fin de minimizar el riesgo de contaminación con amplicón.
- No utilice suministros exclusivos para preparación de reactivos o muestras para el procesamiento del ácido nucleico diana.
- La ficha de datos sobre seguridad de materiales se puede solicitar o consultar en la página web del producto.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE LOS REACTIVOS DEL KIT

- Almacene el kit cerrado a una temperatura de 2° hasta 8°C hasta la fecha de caducidad que aparece en el contenedor externo del kit.
- El Master Mix rehidratado puede conservarse a temperatura ambiente (20°C a 25°C) por hasta 1 hora; o hasta 9 horas a 2°C hasta 8°C, o a -20°C por hasta 3 días.
- Se debe tapar nuevamente el Master Mix rehidratado, sellarlo con Parafilm [película de parafina] y guardarlo en posición vertical. Mantenga el Master Mix lejos de la luz mientras permanece almacenado.

Indicación de Inestabilidad o Deterioro de Reactivos: La turbidez de la Solución de Rehidratación puede indicar deterioro de este reactivo. Contacte a Soporte Técnico de Quidel para que su reemplazo.

RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras utilizadas para la validación del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV fueron obtenidas utilizando técnicas estándar de pacientes con síntomas de infección de lesión. Estas muestras fueron recolectadas, transportadas, almacenadas y procesadas de conformidad con CLSI M41-A.2.

Las muestras pueden conservarse a temperatura de entre 2° y 8°C por hasta siete (7) días antes de su procesamiento.

Se realizó una serie de estudios evaluando una cantidad de medios de transporte viral de uso común a un volumen de 2 mL: M4, M4-RT, M5, M6, y UTM. No se encontraron diferencias significativas en el rendimiento del ensayo entre los cinco tipos diferentes de medios de transporte virales.

ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS PREPARADAS

Las muestras preparadas pueden conservarse durante 48 horas a temperatura de entre 2° y 8°C y 31 días a -20°C o -70°C.

PROGRAMACIÓN INICIAL DE TERMOCICLADOR PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HSV 1 + 2/VZV

BIOARS S.A.
BIOO CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

37 17/31

es necesario modificar nada en este punto.

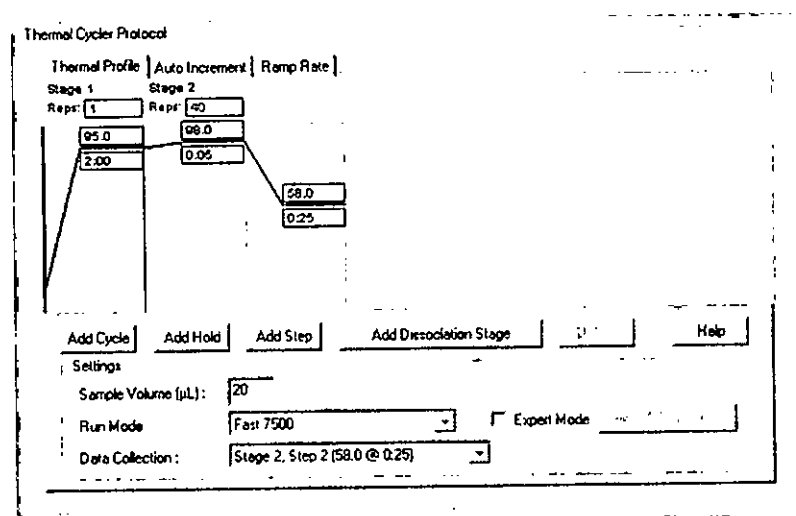
c. Definición del Protocolo del Termociclador:

- i. Seleccione la solapa Instrument para configurar los tiempos y temperaturas de ciclado para PCR de Lyra™ Direct HSV+VZV.
- ii. En Thermal Profile [Perfil Térmico] debería haber un protocolo de dos etapas como opción predeterminada. Cada etapa contará con 3 cuadros de texto editables por el usuario. El valor del cuadro superior representa la cantidad de repeticiones o ciclos para dicha etapa. El valor del cuadro del medio representa la temperatura (°C) y el valor del cuadro inferior representa el tiempo (minutos: segundos).
- iii. Efectúe los siguientes cambios al Thermal Cycler Protocol [Protocolo del Termociclador] predeterminado:
 1. Etapa 1
 - a. Repeticiones: 1
 - b. Temp: 95
 - c. Tiempo: 2:00
 2. Etapa 2 (Etapa de Amplificación en 2 Pasos)
 - a. Repeticiones: 40 para Paso 1
 - iv. Temp: 98
 - v. Tiempo: 0:05
 - b. Paso 2
 - i. Temp: 58
 - ii. Tiempo: 0:25
 3. Si se agrega una etapa de manera errónea, se puede quitar la etapa oprimiendo Delete [Eliminar] luego de resaltar la etapa entre líneas verticales.

iv. En Settings [Ajustes] ingrese la siguiente información:

Volumen de Muestra (µL):	20 (predeterminado)
Modo de ejecución:	Fast 7500 (predeterminado)
Recolección de Datos:	Etapa 2, Paso 2 (58,0@0:25)
NOTA: No tilde el cuadro correspondiente a 'Expert Mode'.	

v. Protocolo final



d. Ajuste umbral para cada analito como se describe a continuación:

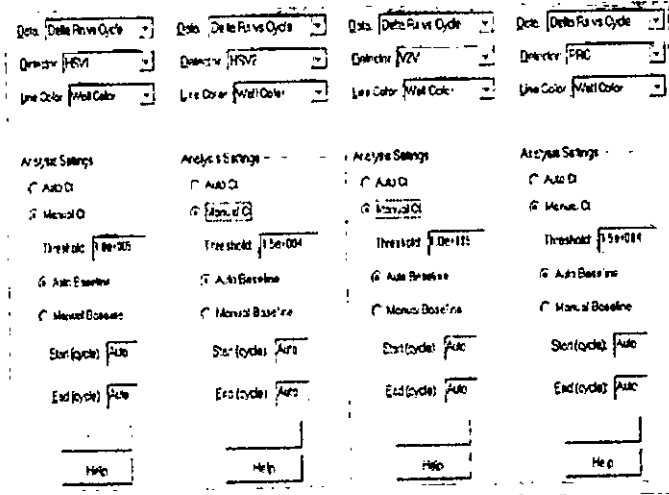
- i. Seleccione la solapa Results.
- ii. Seleccione la solapa Amplification Plot [Gráfico de Amplificación]

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
BIOARS S.A.
BIOO. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

- iii. Seleccione HSV-1 de la solapa Detector en el margen superior derecho.
- iv. En el bloque de Analysis Settings [Ajustes de Análisis], ajuste el Threshold [Umbral] a 1.0e5
- v. Tilde el botón Auto Baseline [línea de base automática]
- vi. Repita pasos iii a v para HSV-2 ajustando el Threshold a 1.5e4.
- vii. Repita pasos iii a v para VZV ajustando el Threshold a 1.0e5.
- viii. Repita pasos iii a v para PRC ajustando el Threshold a 1.5e4.

3/17



- d. Guarde el nuevo protocolo como plantilla para usos futuros.
 - i. En la parte superior de la pantalla seleccione File [Archivo] y luego Save as [Guardar Como]
 - ii. Guarde en: D:\Applied Biosystems\7500 Fast System\Templates\
 - iii. File Name [Nombre de archivo]: 'Lyra™ Direct HSV+VZV'
 - iv. Save as type [Guardar como tipo]: 'SDS Templates (*.sdt)'
- e. Salir del programa

Instrucciones de Programación del Sistema Cepheid SmartCycler® II

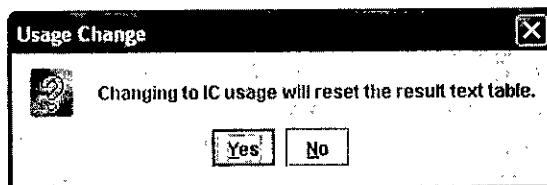
1. Inicie el software versión 3.0b del Sistema Cepheid SmartCycler® II.
2. Cree el ensayo Lyra™ Direct HSV+VZV.
 - a. Seleccione el botón Define Assays [Definir Ensayos] en la parte superior de la pantalla.
 - b. Ponga nombre al ensayo.
 - i. Seleccione el botón New [Nuevo] en la parte inferior izquierda de la pantalla.
 - ii. Ingrese 'Lyra™ Direct HSV+VZV' y seleccione OK
 - iii. Se añadirá 'Lyra™ Direct HSV+VZV' al comienzo de la lista Assay Name [Nombre del Ensayo] ubicada en la parte superior izquierda de la pantalla.
 - c. Configure los valores de análisis: En la sección Assay Type: Research [Tipo de Ensayo: Investigación], seleccione la solapa Analysis Settings [Ajustes de Análisis] y asegúrese que estén configuradas las siguientes especificaciones:
 - i. Seleccione FCTC25 del menú desplegable Dye Set [Set de Colorantes].
 - ii. Se debe configurar el menú desplegable Analysis Type [Tipo de Análisis] en

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
 BIOARS S.A.
 BIOO CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

Qualitative [Cualitativo] (configuración predeterminada).

- iii. En la columna **Channel Name** [Nombre del Canal], ingrese 'HSV-1' para el Canal 1, 'HSV-2' para el Canal 2, 'VZV' para el Canal 3 y 'PRC' para el Canal 4.
- iv. En la columna **Usage** [Uso], seleccione **Target** [Diana] de los menús desplegables para HSV-1, HSV-2, y VZV, y seleccione **Internal Control** [Control Interno] para el PRC. Al seleccionar **Internal Control**, se abrirá una ventana en la parte inferior. Seleccione el botón **Yes**.

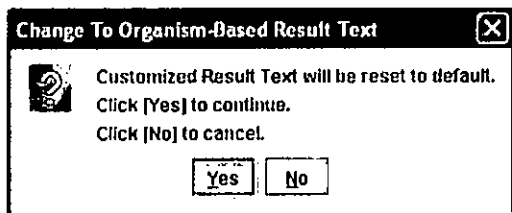


- v. En la columna **Curve Analysis** [Análisis de Curva], ingrese **Primary Curve** [Curva Primaria] para cada canal (HSV-1, HSV-2, VZV, y PRC) (configuración predeterminada).
- vi. En la columna **Thresh Setting** [Configuración de Umbral], ingrese **Manual Threshold** [Umbral Manual] para cada canal (HSV-1, HSV-2, VZV, y PRC) (configuración predeterminada).
- vii. En la columna **Manual Thresh Fluor Units** [Unidades de Fluorescencia del Umbral Manual], ingrese los siguientes umbrales:
 - a. **HSV-1**: 30.0
 - b. **HSV-2**: 30.0
 - c. **VZV**: 30.0
 - d. **PRC**: 8.0
- viii. En la columna **Valid Min Cycle** [Ciclo Mínimo Válido] (*desplácese a la derecha si no es inmediatamente visible*), ingrese **5** para cada canal (HSV-1, HSV-2, VZV, y PRC).
- ix. En la columna **Valid Max Cycle** [Ciclo Máximo Válido] (*desplácese a la derecha si no es inmediatamente visible*), ingrese **45** para cada canal (HSV-1, HSV-2, VZV, y PRC).
- x. En la columna **Bkgnd Sub** [Sustracción del fondo], use "ON" para cada canal (HSV-1, HSV-2, VZV, y PRC) (configuración predeterminada).
- xi. En la columna **Bkgnd Min Cycle** [Mín. de ciclos para fondo], ingrese **5** para cada canal (HSV-1, HSV-2, VZV, y PRC).
- xii. En la columna **Bkgnd Max Cycle** [Máx. de ciclos para fondo], ingrese **45** para los canales HSV-1 y HSV-2.
- xiii. En la columna **Bkgnd Max Cycle**, ingrese **30** para el canal VZV.
- xiv. En la columna **Bkgnd Max Cycle**, ingrese **25** para el canal PRC.
- xv. En la columna **Boxcar Avg cycles** [Media de ciclos para suavizado], mantenga **0** para cada canal (HSV-1, HSV-2, VZV, y PRC) (configuración predeterminada).
- xvi. En la columna **End Pt Threshold** [Umbral del punto final], ingrese **30** para cada canal (HSV-1, HSV-2 y VZV) y **8** para PRC (configuración predeterminada).
- xvii. En la columna **NC IC%**, mantenga "NA" para el canal PCR (configuración predeterminada).
- xviii. En la columna **IC Delta**, mantenga "NA" para cada uno de los canales HSV-1, HSV-2, y VZV (configuración predeterminada).
- xix. En la sección **Customize Result Text** [Personalizar Texto del Resultado] (debajo de

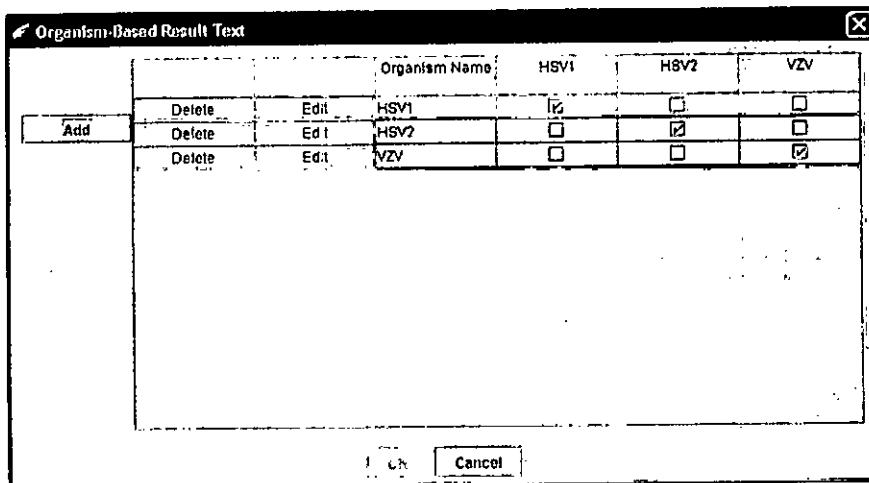
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

la tabla), seleccione **Organism Based Result Text** [Texto de Resultado Basado en Organismo] del menú desplegable. Aparecerá la siguiente ventana de advertencia. Seleccione Yes.

3773



- xx. Seleccione el botón **Customize** [Personalizar] para abrir la ventana de diálogo **Organism-Based Result Text** [Texto de Resultado Basado en Organismo]. Seleccione el botón **Add** [Añadir], ingrese 'HSV-1' en la columna **Organism Name** [Nombre del Organismo] y tilde la casilla HSV-1. Seleccione el botón **Add** [Añadir] nuevamente, ingrese 'HSV-2' en la columna **Organism Name** [Nombre del Organismo] y tilde la casilla HSV-2. Seleccione el botón **Add** [Añadir] otra vez, ingrese 'VZV' en la columna **Organism Name** [Nombre del Organismo] y tilde la casilla VZV.



Haga click sobre OK en la parte inferior de la ventana emergente.

- d. Configure los tiempos y temperaturas de ciclado de PCR de la siguiente manera:
 - i. Etapa 1
 - 1. Mantener
 - 2. Temp: 95.0
 - 3. Segundos: 120
 - 4. Óptica: OFF
 - ii. Etapa 2
 - 1. Ciclo de 3 temperaturas
 - 2. Cantidad de veces que se debe repetir: 45
 - 3. Fila de la primera temperatura:
 - a. Temp: 95.0
 - b. Segundos: 10
 - c. Óptica: OFF

E

A

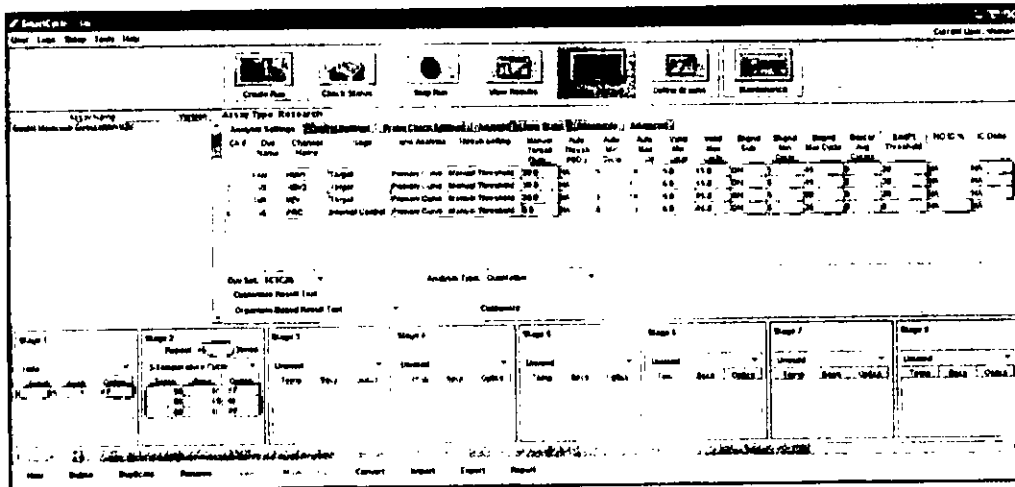
BIOARS S.A.
 BIOD. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO

37 1131

4. Fila de la segunda temperatura:
 - a. Temp: 58.0
 - b. Segundos: 15
 - c. Óptica: ON
5. Fila de la tercera temperatura:
 - a. Temp: 68.0
 - b. Segundos: 10
 - c. Óptica: OFF

3. Guarde el protocolo seleccionando el botón Save [Guardar] en la parte inferior de la pantalla.

Imagen del Protocolo Lyra™ Direct HSV+VZV completo:



PROGRAMACIÓN INICIAL DE TERMOCICLADOR PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HSV 1 + 2

Instrucciones de Programación de Life Technologies QuantStudio™ Dx

Lyra™ proporciona plantillas pre-determinadas para cada ensayo que debe ser cargado a Life Technologies QuantStudio™ Dx. Estas plantillas contienen los parámetros de ejecución, de forma tal que no es necesario programar instrumentos para comenzar. Para instalar un documento de definición de ensayo:

1. De la solapa Home [Inicio] del programa Life Technologies QuantStudio™ Dx, haga click en **Manage Test** [Administrar Ensayo] en el panel de Tools [Herramientas].
2. Desde el **Test Menu** [Menú de Ensayos], haga click en **Install** [Instalar].
3. Vaya a su archivo de documento de definición de ensayo (.tdf), seleccione el archivo Lyra HSV, y haga click en **Open** [Abrir]. El software de Life Technologies QuantStudio™ Dx añade automáticamente el ensayo seleccionado al **Test Menu**.
4. Haga click en **Close** [Cerrar] para cerrar el **Test Menu** y guardar sus cambios.

Instrucciones de Programación de Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

1. Inicie el software de Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.

3713



2. Se abrirá la ventana de diálogo **Quick Startup document** [Inicio Rápido]. Seleccione el botón **Create New Document** [Crear Nuevo Documento] para iniciar el **New Document Wizard** [Wizard de Documento Nuevo]. Siga los pasos para iniciar únicamente el protocolo Lyra™ Direct HSV.
- a. **Definir Documento:** Debería aplicar la configuración predeterminada en la mayoría de los siguientes. En caso contrario, modifique según corresponda.
- i. Confirme o ingrese la siguiente información:

Assay [Ensayo]:	Curva Estándar (Cuantificación absoluta)
Container [Contenedor]:	Placa transparente 96 pocillos
Template [Plantilla]:	Documento en blanco
Run Mode [Modo de ejecución]:	Fast 7500
Operator [Operador]:	<i>el nombre de su operador</i>
Comments [Comentarios]:	SDS v1.4
Plate Name [Nombre de Placa]:	'Lyra Direct HSV'

- ii. Seleccione el botón **Next** [Siguiete]
- iii. **Seleccione Detectores:** Se deben agregar nuevos detectores para HSV-1, HSV-2 y el control de proceso (PRC). Para cada diana, seleccione **New Detector** [Nuevo Detector] para abrir la ventana emergente **New Detector**. Use **Create Another** [Crear Otro] dentro de la ventana emergente **New Detector** para los últimos dos detectores. Ingrese la siguiente información para cada detector:

Nombre	Colorante Reporter	Colorante Quencher	Color
HSV-1	FAM	(none)	(Select)
HSV-2	Joe	(none)	(Select)
PRC	Cy5	(none)	(Select)

- iv. Seleccione un color único para representar cada detector.
- v. Resalte los nuevos detectores y agregue a la columna **Detectors in Document** [Detectores en Documento] usando el botón **Add** [Añadir].
- vi. Seleccione **(none)** del menú desplegable correspondiente a **Passive Reference** [colorante de Referencia Pasiva].
- vii. Seleccione el botón Siguiete.
- viii. Seleccione el botón **Finish** [Finalizar] sin ajustar ningún pocillo.
- b. El wizard se cerrará y se abrirá el programa, comenzando con la solapa **Setup**. Esto mostrará la placa de muestra que se configuró durante el inicio rápido. Para la configuración inicial, no es necesario modificar nada en este punto.
- c. **Definición del Protocolo del Termociclador:**
- i. Seleccione la solapa **Instrument** para configurar los tiempos y temperaturas de ciclado para PCR de Lyra™ Direct HSV.
- ii. En **Thermal Profile** [Perfil Térmico] debería haber un protocolo de dos etapas como opción predeterminada. Cada etapa contará con 3 cuadros de texto editables por el usuario. El valor del cuadro superior representa la cantidad de repeticiones o ciclos para dicha etapa. El valor del cuadro del medio representa la temperatura (°C) y el valor del cuadro inferior representa el tiempo (minutos: segundos).
- iii. Efectúe los siguientes cambios al **Thermal Cycler Protocol** [Protocolo del Termociclador] predeterminado:
1. Etapa 1
 - a. Repeticiones: 1
 - b. Temp: 95
 - c. Tiempo: 2:00
 2. Etapa 2 (Etapa de Amplificación en 2 Pasos)
 - a. Repeticiones: 40 para Paso 1

Handwritten signature

BIOANALISIS S.A.
3100 CLAUDIO ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

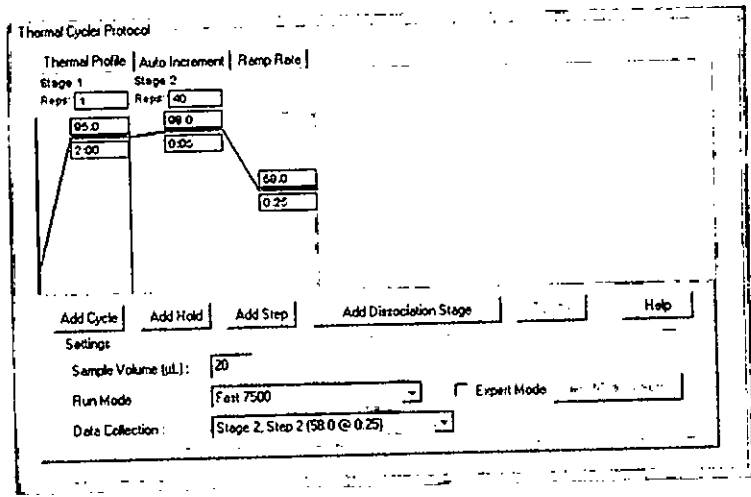
37/19 3



- i. Temp: 98
- ii. Tiempo: 0:05
- b. Paso 2
 - i. Temp: 58
 - ii. Tiempo: 0:25
- 3. Si se agrega una etapa de manera errónea, se puede quitar la etapa oprimiendo el botón Delete [Eliminar] luego de resaltar la etapa entre líneas verticales.
- iv. En Settings [Ajustes] ingrese la siguiente información:

Volumen de Muestra (µL):	20 (predeterminado)
Modo de ejecución:	Fast 7500 (predeterminado)
Recolección de Datos:	Etapa 2, Paso 2 (58,0@0:25)
NOTA: No tildes el cuadro correspondiente a 'Expert Mode'.	

v. Protocolo final

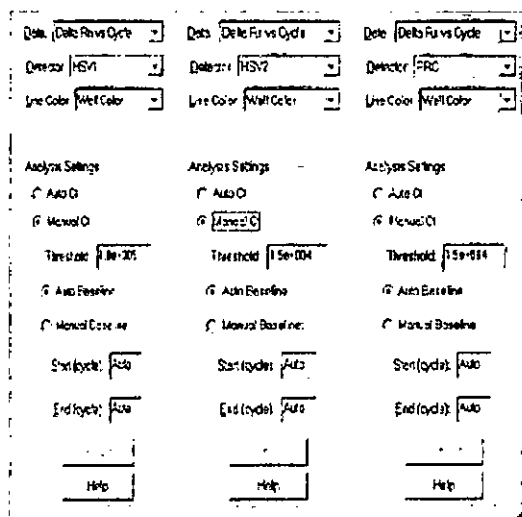


- d. Ajuste umbral para cada analito como se describe a continuación:
 - i. Seleccione la solapa Results.
 - ii. Seleccione la solapa Amplification Plot [Gráfico de Amplificación]
 - iii. Seleccione HSV-1 de la solapa Detector en el margen superior derecho.
 - iv. En el bloque de Analysis Settings [Ajustes de Análisis], ajuste el Threshold [Umbral] a 1.0e5
 - v. Tilde el botón Auto Baseline [línea de base automática]
 - vi. Repita pasos iii a v para HSV-2 ajustando el Threshold a 1.5e4.
 - viii. Repita pasos iii a v para PRC ajustando el Threshold a 1.5e4.

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
DIRECCIÓN G.M.
100 CALLES ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

3783



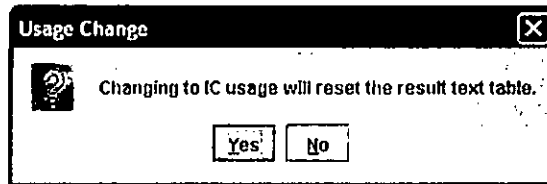
- d. Guarde el nuevo protocolo como plantilla para usos futuros.
 - i. En la parte superior de la pantalla seleccione **File** [Archivo] y luego **Save as** [Guardar Como]
 - ii. **Guarde en:** D:\Applied Biosystems\7500 Fast System\Templates\
 - iii. **File Name** [Nombre de archivo]: 'Lyra™ Direct HSV'
 - iv. **Save as type** [Guardar como tipo]: 'SDS Templates (*.sdt)'
- e. Salir del programa

Instrucciones de Programación del Sistema Cepheid SmartCycler® II

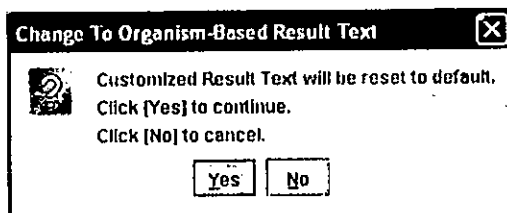
1. Inicie el software versión 3.0b del Sistema Cepheid SmartCycler® II.
2. Cree el ensayo Lyra™ Direct HSV.
 - a. Seleccione el botón **Define Assays** [Definir Ensayos] en la parte superior de la pantalla.
 - b. Ponga nombre al ensayo.
 - i. Seleccione el botón **New** [Nuevo] en la parte inferior izquierda de la pantalla.
 - ii. Ingrese 'Lyra™ Direct HSV' y seleccione **OK**
 - iii. Se añadirá 'Lyra™ Direct HSV' al comienzo de la lista **Assay Name** [Nombre del Ensayo] ubicada en la parte superior izquierda de la pantalla.
 - c. Configure los valores de análisis: En la sección **Assay Type: Research** [Tipo de Ensayo: Investigación], seleccione la solapa **Analysis Settings** [Ajustes de Análisis] y asegúrese que estén configuradas las siguientes especificaciones:
 - i. Seleccione **FCTC25** del menú desplegable **Dye Set** [Set de Colorantes].
 - ii. Se debe configurar el menú desplegable **Analysis Type** [Tipo de Análisis] en **Qualitative** [Cualitativo] (configuración predeterminada).
 - iii. En la columna **Channel Name** [Nombre del Canal], ingrese 'HSV-1' para el Canal 1, 'HSV-2' para el Canal 2 y 'PRC' para el Canal 4. No se utilizará el Canal 3.
 - iv. En la columna **Usage** [Uso], seleccione **Target** [Diana] de los menús desplegables para HSV-1 y HSV-2, seleccione **Internal Control** [Control Interno] para el PRC, y seleccione **Unused** [No utilizado] para el Canal 3. Al seleccionar **Internal Control**, se abrirá una ventana en la parte inferior. Seleccione el botón **Yes**.

[Handwritten Signature]
BIOL. CLAUDE ET CHEVE
DIRECTOR TECNICO

3793



- v. En la columna **Curve Analysis** [Análisis de Curva], ingrese **Primary Curve** [Curva Primaria] para cada canal (HSV-1, HSV-2, y PRC) (configuración predeterminada).
- vi. En la columna **Thresh Setting** [Configuración de Umbral], ingrese **Manual Threshold** [Umbral Manual] para cada canal (HSV-1, HSV-2, y PRC) (configuración predeterminada).
- vii. En la columna **Manual Thresh Fluor Units** [Unidades de Fluorescencia del Umbral Manual], ingrese los siguientes umbrales:
 - a. HSV-1: 30.0
 - b. HSV-2: 30.0
 - c. PRC: 8.0
- viii. En la columna **Valid Min Cycle** [Ciclo Mínimo Válido] (*desplácese a la derecha si no es inmediatamente visible*), ingrese **5** para cada canal (HSV-1, HSV-2, y PRC).
- ix. En la columna **Valid Max Cycle** [Ciclo Máximo Válido] (*desplácese a la derecha si no es inmediatamente visible*), ingrese **45** para cada canal (HSV-1, HSV-2, y PRC).
- x. En la columna **Bkgnd Sub** [Sustracción del fondo], use "ON" para cada canal (HSV-1, HSV-2, y PRC) (configuración predeterminada).
- xi. En la columna **Bkgnd Min Cycle** [Mín. de ciclos para fondo], ingrese **5** para cada canal (HSV-1, HSV-2, y PRC).
- xii. En la columna **Bkgnd Max Cycle** [Máx. de ciclos para fondo], ingrese **45** para los canales HSV-1 y HSV-2.
- xiii. En la columna **Bkgnd Max Cycle**, ingrese **25** para el canal PRC.
- xiv. En la columna **Boxcar Avg cycles** [Media de ciclos para suavizado], mantenga **0** para cada canal (HSV-1, HSV-2, y PRC) (configuración predeterminada).
- xv. En la columna **End Pt Threshold** [Umbral del punto final], ingrese **30** para cada canal (HSV-1 y HSV-2) y **8** para PRC (configuración predeterminada).
- xvi. En la columna **NC IC%**, mantenga "NA" para el canal PCR (configuración predeterminada).
- xvii. En la columna **IC Delta**, mantenga "NA" para cada uno de los canales HSV-1 y HSV-2 (configuración predeterminada).
- xviii. En la sección **Customize Result Text** [Personalizar Texto del Resultado] (debajo de la tabla), seleccione **Organism Based Result Text** [Texto de Resultado Basado en Organismo] del menú desplegable. Aparecerá la siguiente ventana de advertencia. Seleccione Yes.



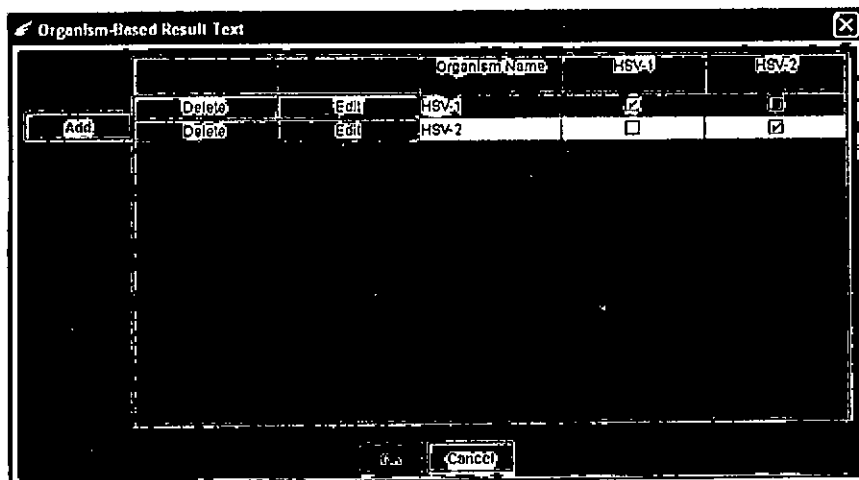
[Handwritten Signature]
BIOARK S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVEZ
DIRECTOR TÉCNICO

3713



- xix. Seleccione el botón **Customize** [Personalizar] para abrir la ventana de diálogo **Organism-Based Result Text** [Texto de Resultado Basado en Organismo]. Seleccione el botón **Add** [Añadir], ingrese 'HSV-1' en la columna **Organism Name** [Nombre del Organismo] y tilde la casilla **HSV-1**. Seleccione el botón **Add** [Añadir] nuevamente, ingrese 'HSV-2' en la columna **Organism Name** [Nombre del Organismo] y tilde la casilla **HSV-2**.

Haga click sobre **OK** en la parte inferior de la ventana emergente.



- d. Configure los tiempos y temperaturas de ciclado de PCR de la siguiente manera:

i. Etapa 1

1. Mantener
2. Temp: 95.0
3. Segundos: 120
4. Óptica: OFF

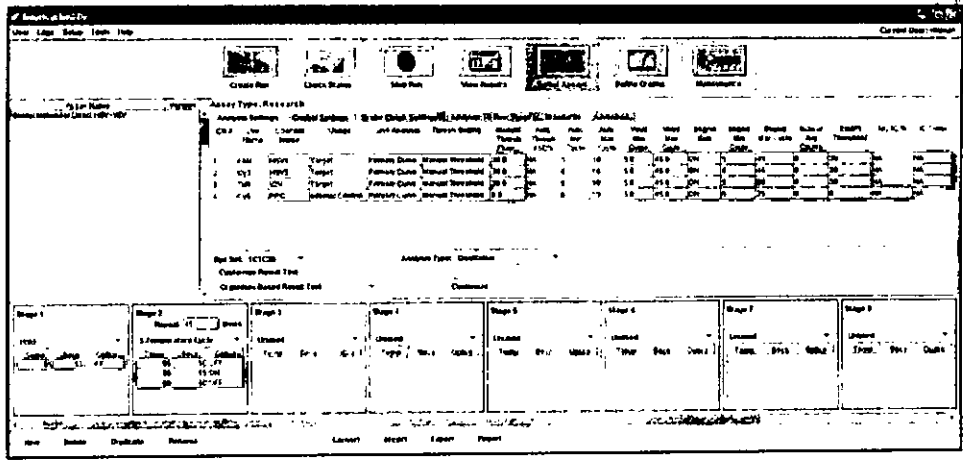
ii. Etapa 2

1. Ciclo de 3 temperaturas
2. Cantidad de veces que se debe repetir: 45
3. Fila de la primera temperatura:
 - a. Temp: 95.0
 - b. Segundos: 10
 - c. Óptica: OFF
4. Fila de la segunda temperatura:
 - a. Temp: 58.0
 - b. Segundos: 15
 - c. Óptica: ON
5. Fila de la tercera temperatura:
 - a. Temp: 68.0
 - b. Segundos: 10
 - c. Óptica: OFF

3. Guarde el protocolo seleccionando el botón **Save** [Guardar] en la parte inferior de la pantalla.

Imagen del Protocolo Lyra™ Direct HSV+VZV completo:

BIOARS, S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIR. OR TECNICO



PROGRAMACIÓN INICIAL DE TERMOCICLADOR PARA LA DETECCIÓN DE VZV

Instrucciones de Programación de Life Technologies QuantStudio™ Dx

Lyra™ proporciona plantillas pre-determinadas para cada ensayo que debe ser cargado a Life Technologies QuantStudio™ Dx. Estas plantillas contienen los parámetros de ejecución, de forma tal que no es necesario programar instrumentos para comenzar. Para instalar un documento de definición de ensayo:

1. De la solapa Home [Inicio] del programa Life Technologies QuantStudio™ Dx, haga click en **Manage Test** [Administrar Ensayo] en el panel de Tools [Herramientas].
2. Desde el **Test Menu** [Menú de Ensayos], haga click en **Install** [Instalar].
3. Vaya a su archivo de documento de definición de ensayo (.tdd), seleccione el archivo Lyra VZV, y haga click en **Open** [Abrir]. El software de Life Technologies QuantStudio™ Dx añade automáticamente el ensayo seleccionado al **Test Menu**.
4. Haga click en **Close** [Cerrar] para cerrar el **Test Menu** y guardar sus cambios.

Instrucciones de Programación de Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

1. Inicie el software de Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.
2. Se abrirá la ventana de diálogo **Quick Startup document** [Inicio Rápido]. Seleccione el botón **Create New Document** [Crear Nuevo Documento] para iniciar el **New Document Wizard** [Wizard de Documento Nuevo]. Siga los pasos para dar inicio al protocolo Lyra Direct VZV.
 - a. Definir Documento: Debería aplicar la configuración predeterminada en la mayoría de los siguientes. En caso contrario, modifique según corresponda.
 - i. Confirme o ingrese la siguiente información:

Assay [Ensayo]:	Curva Estándar (Cuantificación absoluta)
Container [Contenedor]:	Placa transparente 96 pocillos
Template [Plantilla]:	Documento en blanco
Run Mode [Modo de ejecución]:	Fast 7500
Operator [Operador]:	<i>el nombre de su operador</i>
Comments [Comentarios]:	SDS v1.4
Plate Name [Nombre de Placa]:	'Lyra Direct VZV'

- ii. Seleccione el botón **Next** [Siguiete]
- iii. Seleccione Detectores: Se deben agregar nuevos detectores para VZV y el control de proceso (PRC). Para cada diana, seleccione **New Detector** [Nuevo Detector] para

Signature
 BIOARS S.A. -
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO

37713

abrir la ventana emergente **New Detector**. Use **Create Another** [Crear Otro] dentro de la ventana emergente **New Detector** para los últimos dos detectores. Ingrese la siguiente información para cada detector:

Nombre	Colorante Reporter	Colorante Quencher	Color
VZV	Texas Red	(none)	(Select)
PRC	Cy5	(none)	(Select)

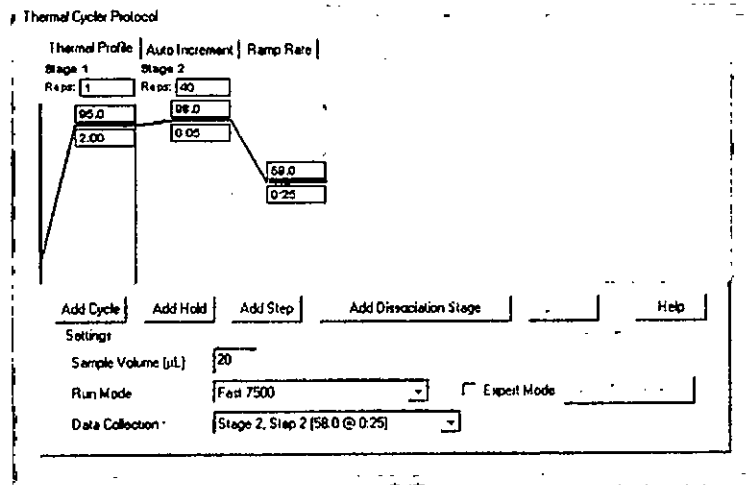
- iv. Seleccionar un color único para representar cada detector.
- v. Resalte los nuevos detectores y agregue a la columna **Detectors in Document** [Detectores en Documento] usando el botón **Add** [Añadir].
- vi. Seleccione **(none)** del menú correspondiente a **Passive Reference** [colorante de Referencia Pasiva].
- vii. Seleccione el botón **Next** [Siguiente].
- viii. Seleccione el botón **Finish** [Finalizar] sin ajustar ningún pocillo.
- b. El wizard se cerrará y se abrirá el programa, comenzando con la solapa **Setup**. Esto mostrará la placa de muestra que se configuró durante el inicio rápido. Para la configuración inicial, no es necesario modificar nada en este punto.
- c. Definición del Protocolo del Termociclador:
 - i. Seleccione la solapa **Instrument** para configurar los tiempos y temperaturas de ciclado para PCR de Lyra™ Direct VZV.
 - ii. En **Thermal Profile** [Perfil Térmico] debería haber un protocolo de dos etapas como opción predeterminada. Cada etapa contará con 3 cuadros de texto editables por el usuario. El valor del cuadro superior representa la cantidad de repeticiones o ciclos para dicha etapa. El valor del cuadro del medio representa la temperatura (°C) y el valor del cuadro inferior representa el tiempo (minutos: segundos).
 - iii. Efectúe los siguientes cambios al **Thermal Cycler Protocol** [Protocolo del Termociclador] predeterminado:
 - 1. Etapa 1
 - a. Repeticiones: 1
 - b. Temp: 95
 - c. Tiempo: 2:00
 - 2. Etapa 2 (Etapa de Amplificación en 2 Pasos)
 - a. Repeticiones: 40 para Paso 1
 - i. Temp: 98
 - ii. Tiempo: 0:05
 - b. Paso 2
 - i. Temp: 58
 - ii. Tiempo: 0:25
 - 3. Si se agrega una etapa de manera errónea, se puede quitar la etapa oprimiendo **Delete** [Eliminar] luego de resaltar la etapa entre líneas verticales.

iv. En **Settings** [Ajustes] ingrese la siguiente información:

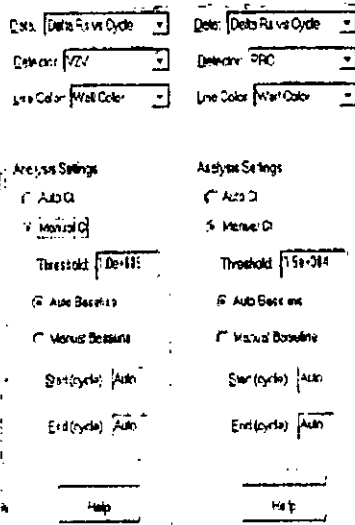
Volumen de Muestra (µL):	20 (predeterminado)
Modo de ejecución:	Fast 7500 (predeterminado)
Recolección de Datos:	Etapa 2, Paso 2 (58,0@0:25)
NOTA: No tilde el cuadro correspondiente a 'Expert Mode'.	

v. Protocolo final

37-13



- d. Ajuste umbral para cada analito como se describe a continuación:
 - i. Seleccione la solapa Results.
 - ii. Seleccione la solapa Amplification Plot [Gráfico de Amplificación]
 - iii. Seleccione VZV de la solapa Detector en el margen superior derecho.
 - iv. En el bloque de Analysis Settings [Ajustes de Análisis], ajuste el Threshold [Umbral] a 1.0e5
 - v. Tilde el botón Auto Baseline [línea de base automática]
 - vi. Repita pasos iii a v para PRC ajustando el Threshold a 1.5e4.



- e. Guarde el nuevo protocolo como plantilla para usos futuros.
 - i. En la parte superior de la pantalla seleccione File [Archivo] y luego Save as [Guardar Como]
 - ii. Guarde en: D:\Applied Biosystems\7500 Fast System\Templates\
 - iii. File Name [Nombre de archivo]: 'Lyra™ Direct VZV'
 - iv. Save as type [Guardar como tipo]: 'SDS Templates (*.sdt)'
- f. Salir del programa

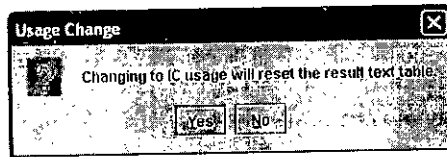
[Handwritten Signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO



37113

Instrucciones de Programación del Sistema Cepheid SmartCycler® II

1. Inicie el software versión 3.0b del Sistema Cepheid SmartCycler® II.
2. Cree el ensayo Lyra™ Direct VZV.
 - a. Seleccione el botón **Define Assays** [Definir Ensayos] en la parte superior de la pantalla.
 - b. Ponga nombre al ensayo.
 - i. Seleccione el botón **New** [Nuevo] en la parte inferior izquierda de la pantalla.
 - ii. Ingrese 'Lyra™ Direct VZV' y seleccione **OK**
 - iii. Se añadirá 'Lyra™ Direct VZV' al comienzo de la lista **Assay Name** [Nombre del Ensayo] ubicada en la parte superior izquierda de la pantalla.
 - c. Investigación], seleccione la solapa **Analysis Settings** [Ajustes de Análisis] y asegúrese que estén configuradas las siguientes especificaciones:
 - i. Seleccione **FCTC25** del menú desplegable **Dye Set** [Set de Colorantes].
 - ii. Se debe configurar el menú desplegable **Analysis Type** [Tipo de Análisis] en **Qualitative** [Cualitativo] (configuración predeterminada).
 - iii. En la columna **Channel Name** [Nombre del Canal], ingrese 'VZV' para el Canal 3, y 'PRC' para el Canal 4. En esta configuración, no se utilizarán los Canales 1 y 2.
 - iv. En la columna **Usage** [Uso], seleccione **Target** [Diana] de los menús desplegables para VZV, y seleccione **Internal Control** [Control Interno] para el PRC. Al seleccionar **Internal Control**, se abrirá una ventana en la parte inferior. Seleccione el botón **Yes**.



- v. En la columna **Curve Analysis** [Análisis de Curva], ingrese **Primary Curve** [Curva Primaria] para cada canal (VZV y PRC) (configuración predeterminada).
- vi. En la columna **Thresh Setting** [Configuración de Umbral], ingrese **Manual Threshold** [Umbral Manual] para cada canal (VZV y PRC) (configuración predeterminada).
- vii. En la columna **Manual Thresh Fluor Units** [Unidades de Fluorescencia del Umbral Manual], ingrese los siguientes umbrales:
 - a. **VZV: 30.0**
 - b. **PRC: 8.0**
- viii. En la columna **Valid Min Cycle** [Ciclo Mínimo Válido] (*desplácese a la derecha si no es inmediatamente visible*), ingrese **5** para cada canal (VZV y PRC).
- ix. En la columna **Valid Max Cycle** [Ciclo Máximo Válido] (*desplácese a la derecha si no es inmediatamente visible*), ingrese **45** para cada canal (VZV y PRC).
- x. En la columna **Bkgnd Sub** [Sustracción del fondo], use "ON" para cada canal (VZV y PRC) (configuración predeterminada).
- xi. En la columna **Bkgnd Min Cycle** [Mín. de ciclos para fondo], ingrese **5** para cada canal (VZV y PRC).
- xii. En la columna **Bkgnd Max Cycle**, ingrese **30** para el canal VZV.
- xiii. En la columna **Bkgnd Max Cycle**, ingrese **25** para el canal PRC.
- xiv. En la columna **Boxcar Avg cycles** [Media de ciclos para suavizado], mantenga **0**

Claudia Etcheves
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

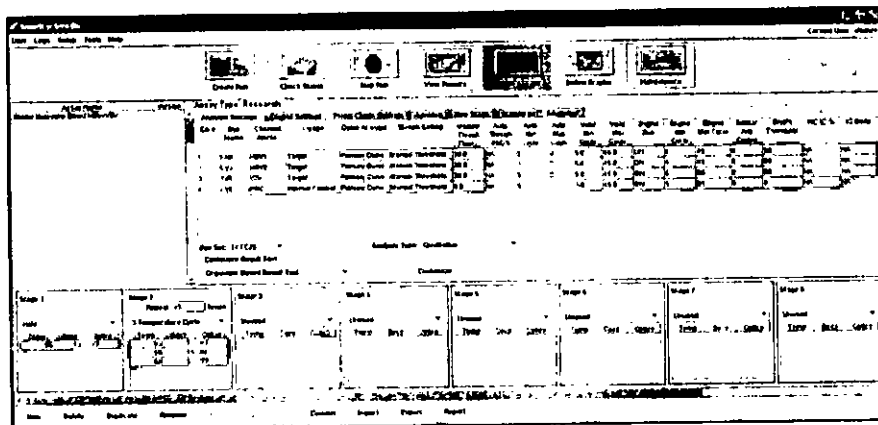
37



3. Fila de la primera temperatura:
 - a. Temp: 95.0
 - b. Segundos: 10
 - c. Óptica: OFF
4. Fila de la segunda temperatura:
 - a. Temp: 58.0
 - b. Segundos: 15
 - c. Óptica: ON
5. Fila de la tercera temperatura:
 - a. Temp: 68.0
 - b. Segundos: 10
 - c. Óptica: OFF

3. Guarde el protocolo seleccionando el botón Save [Guardar] en la parte inferior de la pantalla.

Imagen del Protocolo Lyra™ Direct VZV completo:



PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Realice los siguientes procedimientos a temperatura ambiente controlada entre 20 y 25°C.

Procedimiento de Preparación de Muestras

1. Extraiga 100 µL de líquido del tubo de muestra del hisopado de la lesión y colóquelo en un tubo para microcentrifuga limpio de 1.5 mL previamente etiquetado.
2. Caliente a 60° C en bloque térmico seco por 5 minutos.
3. Retire del calor y añada 25 µL de la Solución Tampón de Proceso en los siguientes 60 minutos. No es necesario mezclar.

Procedimiento de Rehidratación del Master Mix

1. Determine la cantidad de muestras a examinar, y obtenga la cantidad apropiada de viales liofilizados para 8 reacciones del Master Mix para los ensayos.
2. Vuelva a almacenar los reactivos no utilizados en condiciones apropiadas.
3. Abra el Master Mix con cuidado, a fin de evitar alteraciones en el pellet.
4. Añada 135 µL de Solución de Rehidratación al Master Mix.

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVES
DIRECTOR TÉCNICO

5. Deje el vial a temperatura ambiente por 1 o 2 minutos para permitir la rehidratación del pellet.
6. Pipetee suavemente 3 a 5 veces hacia arriba y abajo (evitando la formación de burbujas) antes de colocar en el primer tubo o pocillo de placa de PCR.

Nota: El Master Mix rehidratado alcanza para ocho reacciones. Se lo puede mantener a temperatura ambiente (20 a 25°C) hasta 1 hora, o hasta 9 horas a temperaturas entre 2 y 8 °C, o hasta 3 días a -20°C. Se debe tapar nuevamente el Master Mix rehidratado, sellarlo con parafilm [película de parafina] y guardarlo en posición vertical. Proteja el Master Mix de la luz mientras permanece almacenado.

Procedimiento de Configuración de PCR de HSV 1 + 2/VZV:

1. Añada 15 µL del Master Mix rehidratado a cada tubo de reacción o pocillo de placa.
 2. Añada 5 µL de muestra preparada (muestra calentada con la adición de la solución de tampón) a los tubos de reacción o pocillos de placa. No se requiere mezclar los reactivos.
- Nota:** Use una micropipeta con una nueva punta de pipeta con barrera anti-aerosol para cada muestra preparada
3. Cierre los tubos de reacción o selle la placa.
- Nota:** Quidel sugiere que en cada serie del termociclador incluya un tubo de reacción o placa con Control Externo Positivo y Negativo de HSV-1, HSV-2 y VZV. Realice los controles de conformidad con las prácticas y políticas de su laboratorio.
4. Centrifugue los tubos de reacción o las placas por un tiempo mínimo de 15 segundos. Asegúrese de que todo el líquido esté en el fondo del tubo.
 5. Inserte los tubos o placa en el termociclador.

PROTOCOLO DE AMPLIFICACIÓN PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HSV 1+2/VZV

Protocolo de Amplificación en Life Technologies QuantStudio™ Dx

1. Encienda el Life Technologies QuantStudio™ Dx.
2. Elija el modo IVD en el instrumento.
3. Inicie el programa Life Technologies QuantStudio™ Dx IVD.
4. Ingrese el **Username** [Nombre de Usuario] y **Password** [Contraseña] cuando se lo solicite el sistema.
5. Se abrirá la **Home screen** [Pantalla de Inicio].
6. En la casilla **Setup** [Configuración], resalte el nombre del ensayo previamente cargado, "**Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV.**"
7. Haga click en el botón **Setup** para iniciar la ejecución.
8. Aparecerá la pantalla **Setup, Test Properties** [Configuración, Propiedades del Ensayo]. Ingrese la información correspondiente a la ejecución del ensayo.
 - a. Ingrese el **Experiment Name** [Nombre del Experimento] (la configuración determinada ejecuta el programa con un sello de día y hora en el campo de nombre de la placa).
 - b. Ingrese la información del **Plate Barcode** [Código de Barras de la Placa].
 - c. Registre los números de lote de los materiales en **Reagent Information** [Información de los Reactivos].
 - d. Guarde la ejecución como **YYMMDD-Lyra™ HSV-VZV.eds** [AAMMDD - Lyra™ HSV-VZV.eds].
 - e. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese "**Setup**" y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.
9. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Define** [Definir].
10. Edite la información de la muestra.
 - a. Ingrese la información específica de la muestra para cada pocillo, borrando el identificador predeterminado (Paciente 1, Paciente 2, etc.) e ingresando nueva información, **O**
 - b. Seleccione **Import from File** [Importar desde Archivo] en la parte superior de la pantalla para cargar un mapa de placa predefinido desde un archivo Text (delimitado por tabuladores).

Handwritten signature
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

3773



11. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Assign** [Asignar] para verificar la correcta configuración de la placa.
12. Carga de la placa de muestras.
 - a. Abra la **bandeja de instrumentos**.
 - b. Inserte la placa de PCR de 96 pocillos en la máquina con el pocillo A1 colocado en la esquina superior izquierda.
 - c. Repliegue la bandeja de instrumentos.
13. Inicio de la ejecución.
 - a. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Run** [Ejecutar].
 - b. Haga click en el botón verde **Start Run** [Comenzar Ejecución] en la parte superior de la pantalla.
 - i. Si lo solicitan, seleccione el número de serie específico del instrumento en uso.
14. Cuando haya terminado, seleccione **Analysis** [Análisis] en la barra de menú de la izquierda.
 - a. Guarde el archivo haciendo click en **Save** [Guardar] en la barra de tareas. Se abrirá una ventana solicitando el Reason for change of entry". Ingrese **"Data analysis post run"** [Análisis de datos post-ejecución] y cualquier otro comentario relevante sobre la ejecución.
 - b. Se mostrará el **Amplification Plot** [Gráfico de Amplificación] por default. Para ver otros tipos de gráficos, selecciónelos de la barra del menú de la izquierda.
 - c. Para ver información de la ejecución con valores de Ct, seleccione la solapa **Well Table** [Tabla del Pocillo] a la derecha de la pantalla.
15. Impresión del informe.
 - a. En la barra de menú superior, seleccione **Print Report** [Imprimir informe]. Personalice el contenido del informe activando o desactivando casillas de la ventana de informe.
 - b. Seleccione el botón **"Print Report"** en la parte inferior del cuadro de diálogo.
16. Exportar archivos de datos.
 - a. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Export** [Exportar].
 - b. Ingrese la **Export File Location** [Ubicación del Archivo a Exportar] O haga click en **Browse** [Navegar] para localizar la ruta deseada.
 - c. Está predeterminado que el **Export File Name** [Nombre del Archivo Exportado] será el de la ejecución guardada.
 - d. Seleccione Excel como el tipo de archivo.
 - e. Personalice el informe de datos exportado cambiando las solapas provistas y marcando o desmarcando opciones.
 - f. Seleccione **Start Export** [Comenzar a Exportar] en la parte inferior de la pantalla.

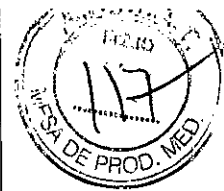
Protocolo de Amplificación para Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

1. Encienda el Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.
2. Inicie el programa Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.
3. Se abrirá la ventana de diálogo **Quick Startup document** [Inicio Rápido].
4. Haga click sobre **Create a new document** [Crear un documento nuevo]
5. Debería aplicar la configuración predeterminada en la mayoría de los siguientes. En caso contrario, modifique según corresponda.

Assay [Ensayo]:	Curva Estándar (Cuantificación absoluta)
Container [Contenedor]:	Placa transparente 96 pocillos
Template [Plantilla]:	Lyra™ Direct HSV+VZV
Run Mode [Modo de ejecución]:	Fast 7500
Operator [Operador]:	<i>el nombre de su operador</i>
Comments [Comentarios]:	SDS v1.4 (añada otros de ser necesario)
Plate Name [Nombre de Placa]:	YYMMDD-Lyra™ Direct HSV+VZV

Ensayo Lyra Direct HSV 1 + 2/VZV

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO



37713

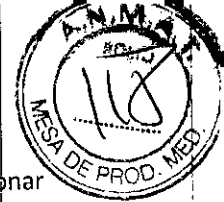
6. Haga click en **Finish** [Finalizar] una vez que haya ingresado la configuración.
7. Instale la Placa de Muestras.
 - a. Bajo las solapas **Setup** y **Plate** aparecerá la configuración de la placa.
 - b. Seleccione todos los pocillos que van a contener muestras, haga click con el botón derecho y seleccione el **Well Inspector** [Inspector de pocillos] del menú desplegable. Cuando se abra la ventana emergente **Well Inspector**, seleccione los detectores para HSV-1, HSV-2, VZV, y PRC.
 - c. Use el **Well Inspector** para ingresar los nombres de las muestras. Se pueden ingresar los IDs de los pacientes en la ventana del Well Inspector. Sin embargo, se recomienda que se haga antes de resuspender el master mix liofilizado, después de la ejecución, o utilizando la función importar para minimizar el tiempo en que las reacciones PCR permanecerán a temperatura ambiente antes de comenzar la ejecución.
 - d. Guarde la ejecución como **YYMMDD-Lyra™ Direct HSV+VZV.sds** [AAMMDD - Lyra™ HSV-VZV.sds].
- e. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese "**Data analysis post run**" [Análisis de Datos pos-ejecución] y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.
8. Inicio de la PCR
 - a. Seleccione la solapa **Instrument**.
 - b. Inserte la placa de PCR de 96 pocillos en la máquina.
 - c. En **Instrument Control**, seleccione el botón **Start** [Inicio para iniciar la ejecución].
9. Pos-PCR
 - a. **IMPORTANTE:** Una vez finalizada la ejecución, presione OK. Analice la información presionando el botón "**Analyze**" [Analizar] en el menú superior, y guarde el archivo.
 - b. Guarde el archivo haciendo click sobre **Save Document** [Guardar Documento] en la barra de tareas. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese "**Data analysis post run**" [Análisis de Datos pos-ejecución] y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.

Protocolo de Amplificación para el Sistema Cepheid SmartCycler® II

1. Encienda el/los Bloque(s) SmartCycler.
2. Inicie el software versión 3.0b del Sistema Cepheid SmartCycler® II.
3. Seleccione el botón **Create Run** [Crear Ejecución] del menú en la parte superior de la pantalla para configurar la ejecución.
4. En **Run Name** [Nombre de la ejecución], ingrese un nombre para la ejecución actual (por ej. AAMMDD-Lyra™ Direct HSV+VZV).
5. En **Notes** [Notas], ingrese cualquier nota sobre la ejecución para referencia futura.
6. En **Assay** [Ensayo], seleccione el ensayo 'Lyra™ Direct HSV+VZV' del menú desplegable.
7. En **Assay Information** [Información del Ensayo], ingrese número de lote y fecha de vencimiento del kit.
8. Para seleccionar los pocillos que serán utilizados, elija una de las siguientes opciones:
 - a. Para asignar pocillos de forma automática:
 - i. En **Number of specimens** [Cantidad de muestras], ingrese la cantidad de muestras en el cuadro de texto provisto.
 - ii. Seleccione el botón **Apply** [Aplicar]. La cantidad de filas ingresadas aparecerá en la **Site Table** [Tabla de Posiciones].
 - b. Para elegir los pocillos de forma manual en los bloques de SmartCycler:
 - i. Seleccione el botón **Add/Remove Sites** [Añadir/Remover Posiciones] hacia la parte inferior de la pantalla.
 - ii. Esta acción abrirá la ventana emergente **Select Sites** [Seleccionar Posición] que tiene dos columnas. La columna de la izquierda (**Sites** [Posiciones]) enumera todas las posiciones disponibles, y la columna de la derecha (**Selections** [Selección]) contiene todas las posiciones seleccionadas.

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

317913



- iii. Para seleccionar todas las posiciones, haga click en el botón **Select All Sites** [Seleccionar Todas las Posiciones].
 - iv. Para seleccionar posiciones específicas, resalte una o más posiciones, y seleccione la flecha de la derecha para añadir la/s posición/posiciones a la columna **Selections**.
 - v. Seleccione el botón **OK** para cerrar la ventana. Las posiciones seleccionadas aparecerán en la **Site Table**.
9. Ingrese los identificadores de las muestras en la columna **Sample ID** [ID de Muestras] dentro de la **Site Table** (este paso también puede realizarse luego de comenzada la ejecución).
10. Ingrese cualquier nota en la columna **Notes**, y deje 'SPEC' en la columna **Sample Type**.
11. Seleccione el botón **Start Run** [Iniciar Ejecución] en la parte inferior de la pantalla.
12. Seleccione el botón **View Results** [Ver Resultados] para ver el progreso de la ejecución.
13. Guarde luego de que haya terminado y antes de salir del programa.

PROTOKOLO DE AMPLIFICACIÓN PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HSV 1 + 2

Protocolo de Amplificación en Life Technologies QuantStudio™ Dx

1. Encienda Life Technologies QuantStudio™ Dx.
2. Elija el modo IVD en el instrumento.
3. Inicie el software de Life Technologies QuantStudio™ Dx IVD.
4. Ingrese el **Username** [Nombre de Usuario] y **Password** [Contraseña] del sistema cuando se lo solicite.
5. Se abrirá la ventana **Home screen** [Pantalla de Inicio].
6. En la casilla **Setup** [Configuración], resalte el nombre del ensayo previamente cargado, "**Lyra HSV 1 + 2 Assay.**"
7. Haga click en el botón **Setup** para comenzar la ejecución.
8. Aparecerá la pantalla **Setup, Test Properties** [Configuración, Propiedades del Ensayo]. Ingrese la información de ejecución según corresponda.
 - a. Ingrese el **Experiment Name** [Nombre del Experimento] (la configuración determinada ejecuta el programa con un sello de día y hora en el campo de nombre de la placa
 - b. Ingrese la información del **Plate Barcode** [Código de Barras de la Placa].
 - c. Registre los números de lote de los materiales en **Reagent Information** [Información de los Reactivos].
 - d. Guarde la ejecución como **YYMMDD-Lyra™ HSV.eds** [AAMMDD - Lyra™ HSV.eds].
 - e. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese "**Setup**" y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.
9. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Define** [Definir].
10. Edite la información de la muestra.
 - a. Ingrese la información específica de la muestra para cada pocillo, borrando el identificador predeterminado (Paciente 1, Paciente 2, etc.) e ingresando nueva información, O
 - b. Seleccione **Import from File** [Importar desde Archivo] en la parte superior de la pantalla para cargar un mapa de placa predefinido desde un archivo Text (delimitado por tabuladores).
11. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Assign** [Asignar] para verificar la correcta configuración de la placa.
12. Carga de la placa de muestras.
 - a. Abra la bandeja de instrumentos.
 - b. Inserte la placa de PCR de 96 pocillos en la máquina con el pocillo A1 colocado en la esquina superior izquierda.
 - c. Repliegue la bandeja de instrumentos.
13. Inicio de la ejecución.
 - a. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Run** [Ejecutar].

E.

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVEZ
DIRECTOR TÉCNICO

317713



- b. Haga click en el botón verde **Start Run** [Comenzar Ejecución] en la parte superior de la pantalla.
 - i. Si lo solicitan, seleccione el número de serie específico del instrumento en uso.
- 14. Cuando haya terminado, seleccione **Analysis** [Análisis] en la barra de menú de la izquierda.
 - a. Guarde el archivo haciendo click en **Save** [Guardar] en la barra de tareas. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry". Ingrese "**Data analysis post run**" [Análisis de datos post-ejecución] y cualquier otro comentario relevante sobre la ejecución.
 - b. Se mostrará el **Amplification Plot** [Gráfico de Amplificación] por default. Para ver otros tipos de gráficos, selecciónelos de la barra del menú de la izquierda.
 - c. Para ver información de la ejecución con valores de Ct, seleccione la solapa **Well Table** [Tabla del Pocillo] a la derecha de la pantalla.
- 15. Impresión del informe.
 - a. En la barra de menú superior, seleccione **Print Report** [Imprimir informe]. Personalice el contenido del informe activando o desactivando casillas de la ventana de informe.
 - b. Seleccione el botón "**Print Report**" en la parte inferior del cuadro de diálogo.
- 16. Exportar archivos de datos.
 - a. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Export** [Exportar].
 - b. Ingrese la **Export File Location** [Ubicación del Archivo a Exportar] O haga click en **Browse** [Navegar] para localizar la ruta deseada.
 - c. Está predeterminado que el **Export File Name** [Nombre del Archivo Exportado] será el de la ejecución guardada.
 - d. Seleccione Excel como el tipo de archivo.
 - e. Personalice el informe de datos exportado cambiando las solapas provistas y marcando o desmarcando opciones.
 - f. Seleccione Start Export [Comenzar a Exportar] en la parte inferior de la pantalla.

Protocolo de Amplificación para Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

1. Encienda el Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.
2. Inicie el programa Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.
3. Se abrirá la ventana de diálogo **Quick Startup document** [Inicio Rápido].
4. Haga click sobre **Create a new document** [Crear un documento nuevo]
5. Debería aplicar la configuración predeterminada en la mayoría de los siguientes. En caso contrario, modifique según corresponda.

Assay [Ensayo]:	Curva Estándar (Cuantificación absoluta)
Container [Contenedor]:	Placa transparente 96 pocillos
Template [Plantilla]:	Lyra™ Direct HSV
Run Mode [Modo de ejecución]:	Fast 7500
Operator [Operador]:	<i>el nombre de su operador</i>
Comments [Comentarios]:	SDS v1.4 (<i>añada otros de ser necesario</i>)
Plate Name [Nombre de Placa]:	YYMMDD-Lyra™ Direct HSV

6. Haga click en **Finish** [Finalizar] una vez que haya ingresado la configuración.
7. Instale la Placa de Muestras.
 - a. Bajo las solapas **Setup** y **Plate** aparecerá la configuración de la placa.
 - b. Seleccione todos los pocillos que van a contener muestras, haga click con el botón derecho y seleccione el **Well Inspector** [Inspector de pocillos] del menú desplegable. Cuando se abra la ventana emergente **Well Inspector**, seleccione los detectores para HSV-1, HSV-2, y PRC.
 - c. Use el **Well Inspector** para ingresar los nombres de las muestras. Se pueden ingresar los IDs de los pacientes en la ventana del Well Inspector. Sin embargo, se recomienda que se haga antes de

Ensayo Lyra Direct HSV 1 + 2/VZV

Página 28 de 55

 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

3/7/17



resuspender el master mix liofilizado, después de la ejecución, o utilizando la función importar para minimizar el tiempo en que las reacciones PCR permanecerán a temperatura ambiente antes de comenzar la ejecución.

- d. Guarde la ejecución como **YYMMDD-Lyra™ Direct HSV.sds** [AAMMDD - Lyra™ HSV.sds].
- e. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese "Setup" y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.

8. Inicio de la PCR

- a. Seleccione la solapa **Instrument**.
- b. Inserte la placa de PCR de 96 pocillos en la máquina.
- c. En **Instrument Control**, seleccione el botón **Start** [Inicio] para iniciar la ejecución.

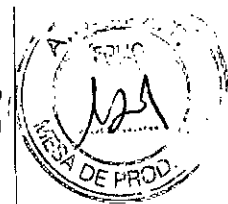
9. Pos-PCR

- a. **IMPORTANTE:** Una vez finalizada la ejecución, presione OK. Analice la información presionando el botón "Analyze" [Analizar] en el menú superior, y guarde el archivo.
- b. Guarde el archivo haciendo clic sobre **Save Document** [Guardar Documento] en la barra de tareas. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese "Data analysis post run" [Análisis de Datos pos-ejecución] y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.

Protocolo de Amplificación para el Sistema Cepheid SmartCycler® II

1. Encienda el/los Bloque(s) SmartCycler.
2. Inicie el software versión 3.0b del Sistema Cepheid SmartCycler® II.
3. Seleccione el botón **Create Run** [Crear Ejecución] del menú en la parte superior de la pantalla para configurar la ejecución.
4. En **Run Name** [Nombre de la ejecución], ingrese un nombre para la ejecución actual (por ej. AAMMDD-Lyra™ Direct HSV).
5. En **Notes** [Notas], ingrese cualquier nota sobre la ejecución para referencia futura.
6. En **Assay** [Ensayo], seleccione el ensayo 'Lyra™ Direct HSV' del menú desplegable.
7. En **Assay Information** [Información del Ensayo], ingrese número de lote y fecha de vencimiento del kit.
8. Para seleccionar los pocillos que serán utilizados, elija una de las siguientes opciones:
 - a. Para asignar pocillos de forma automática:
 - i. En **Number of specimens** [Cantidad de muestras], ingrese la cantidad de muestras en el cuadro de texto provisto.
 - ii. Seleccione el botón **Apply** [Aplicar]. La cantidad de filas ingresadas aparecerá en la **Site Table** [Tabla de Posiciones].
 - b. Para elegir los pocillos de forma manual en los bloques de SmartCycler:
 - i. Seleccione el botón **Add/Remove Sites** [Añadir/Remover Posiciones] hacia la parte inferior de la pantalla.
 - ii. Esta acción abrirá la ventana emergente **Select Sites** [Seleccionar Posición] que tiene dos columnas. La columna de la izquierda (**Sites** [Posiciones]) enumera todas las posiciones disponibles, y la columna de la derecha (**Selections** [Selección]) contiene todas las posiciones seleccionadas.
 - iii. Para seleccionar todas las posiciones, haga click en el botón **Select All Sites** [Seleccionar Todas las Posiciones].
 - iv. Para seleccionar posiciones específicas, resalte una o más posiciones, y seleccione la flecha de la derecha para añadir la/s posición/posiciones a la columna **Selections**.
 - v. Seleccione el botón **OK** para cerrar la ventana. Las posiciones seleccionadas aparecerán en la **Site Table**.
9. Ingrese los identificadores de las muestras en la columna **Sample ID** [ID de Muestras] dentro de la **Site Table** (este paso también puede realizarse luego de comenzada la ejecución).
10. Ingrese cualquier nota en la columna **Notes**, y deje 'SPEC' en la columna **Sample Type**.

371/3



11. Seleccione el botón **Start Run** [Iniciar Ejecución] en la parte inferior de la pantalla.
12. Seleccione el botón **View Results** [Ver Resultados] para ver el progreso de la ejecución.
13. Guarde luego de que haya terminado y antes de salir del programa.

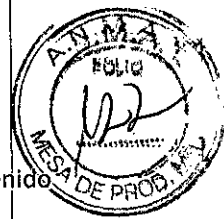
PROTOCOLO DE AMPLIFICACIÓN PARA LA DETECCIÓN DE VZV

Protocolo de Amplificación en Life Technologies QuantStudio™ Dx

1. Encienda el Life Technologies QuantStudio™ Dx.
2. Elija el modo IVD en el instrumento.
3. Inicie el programa Life Technologies QuantStudio™ Dx IVD.
4. Ingrese el **Username** [Nombre de Usuario] y **Password** [Contraseña] cuando se lo solicite el sistema.
5. Se abrirá la **Home screen** [Pantalla de Inicio].
6. En la casilla **Setup** [Configuración], resalte el nombre del ensayo previamente cargado, "**Ensayo Lyra™ Direct VZV.**"
7. Haga click en el botón **Setup** para iniciar la ejecución.
8. Aparecerá la pantalla **Setup, Test Properties** [Configuración, Propiedades del Ensayo]. Ingrese la información correspondiente a la ejecución del ensayo.
 - a. Ingrese el **Experiment Name** [Nombre del Experimento] (la configuración determinada ejecuta el programa con un sello de día y hora en el campo de nombre de la placa).
 - b. Ingrese la información del **Plate Barcode** [Código de Barras de la Placa].
 - c. Registre los números de lote de los materiales en **Reagent Information** [Información de los Reactivos].
 - d. Guarde la ejecución como **YYMMDD-Lyra VZV.eds** [AAMMDD - Lyra™ VZV.eds].
 - e. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese "**Setup**" y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.
9. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Define** [Definir].
10. Edite la información de la muestra.
 - a. Ingrese la información específica de la muestra para cada pocillo, borrando el identificador predeterminado (Paciente 1, Paciente 2, etc.) e ingresando nueva información, O
 - b. Seleccione **Import from File** [Importar desde Archivo] en la parte superior de la pantalla para cargar un mapa de placa predefinido desde un archivo Text (delimitado por tabuladores).
11. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Assign** [Asignar] para verificar la correcta configuración de la placa.
12. Carga de la placa de muestras.
 - a. Abra la bandeja de instrumentos.
 - b. Inserte la placa de PCR de 96 pocillos en la máquina con el pocillo A1 colocado en la esquina superior izquierda.
 - c. Repliegue la bandeja de instrumentos.
13. Inicio de la ejecución.
 - a. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Run** [Ejecutar].
 - b. Haga click en el botón verde **Start Run** [Comenzar Ejecución] en la parte superior de la pantalla.
 - i. Si lo solicitan, seleccione el número de serie específico del instrumento en uso.
14. Cuando haya terminado, seleccione **Analysis** [Análisis] en la barra de menú de la izquierda.
 - a. Guarde el archivo haciendo click en **Save** [Guardar] en la barra de tareas. Se abrirá una ventana solicitando el Reason for change of entry". Ingrese "**Data analysis post run**" [Análisis de datos post-ejecución] y cualquier otro comentario relevante sobre la ejecución.
 - b. Se mostrará el **Amplification Plot** [Gráfico de Amplificación] por default. Para ver otros tipos de gráficos, selecciónelos de la barra del menú de la izquierda.
 - c. Para ver información de la ejecución con valores de Ct, seleccione la solapa **Well Table** [Tabla del Pocillo] a la derecha de la pantalla.
15. Impresión del informe.

BIOARS S.A.
BIO CLAUDIA ETCHEVEZ
DIRECTOR TECNICO

3793



- a. En la barra de menú superior, seleccione **Print Report** [Imprimir informe]. Personalice el contenido del informe activando o desactivando casillas de la ventana de informe.
 - b. Seleccione el botón "**Print Report**" en la parte inferior del cuadro de diálogo.
16. Exportar archivos de datos.
- a. En la barra de menú de la izquierda, seleccione **Export** [Exportar].
 - b. Ingrese la **Export File Location** [Ubicación del Archivo a Exportar] O haga click en **Browse** [Navegar] para localizar la ruta deseada.
 - c. Está predeterminado que el **Export File Name** [Nombre del Archivo Exportado] será el de la ejecución guardada.
 - d. Seleccione Excel como el tipo de archivo.
 - e. Personalice el informe de datos exportado cambiando las solapas provistas y marcando o desmarcando opciones.
 - f. Seleccione **Start Export** [Comenzar a Exportar] en la parte inferior de la pantalla.

Protocolo de Amplificación para Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

1. Encienda el Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.
2. Inicie el programa Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.
3. Se abrirá la ventana de diálogo **Quick Startup document** [Inicio Rápido].
4. Haga click sobre **Create a new document** [Crear un documento nuevo]
5. Debería aplicar la configuración predeterminada en la mayoría de los siguientes. En caso contrario, modifique según corresponda.

Assay [Ensayo]:	Curva Estándar (Cuantificación absoluta)
Container [Contenedor]:	Placa transparente 96 pocillos
Template [Plantilla]:	Lyra™ Direct VZV
Run Mode [Modo de ejecución]:	Fast 7500
Operator [Operador]:	<i>el nombre de su operador</i>
Comments [Comentarios]:	SDS v1.4 (<i>añada otros de ser necesario</i>)
Plate Name [Nombre de Placa]:	YMMDD-Lyra™ Direct VZV

6. Haga click en **Finish** [Finalizar] una vez que haya ingresado la configuración.
7. Instale la Placa de Muestras.
 - a. Bajo las solapas **Setup** y **Plate** aparecerá la configuración de la placa.
 - b. Seleccione todos los pocillos que van a contener muestras, haga click con el botón derecho y seleccione el **Well Inspector** [Inspector de pocillos] del menú desplegable. Cuando se abra la ventana emergente **Well Inspector**, seleccione los detectores para VZV y PRC.
 - c. Use el **Well Inspector** para ingresar los nombres de las muestras. Se pueden ingresar los IDs de los pacientes en la ventana del Well Inspector. Sin embargo, se recomienda que se haga antes de resuspender el master mix liofilizado, después de la ejecución, o utilizando la función importar para minimizar el tiempo en que las reacciones PCR permanecerán a temperatura ambiente antes de comenzar la ejecución.
 - d. Guarde la ejecución como **YMMDD-Lyra Direct VZV.sds** [AAMMDD – Lyra VZV.sds].
- e. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese "**Setup**" y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.
8. Inicio de la PCR
 - a. Seleccione la solapa **Instrument**.
 - b. Inserte la placa de PCR de 96 pocillos en la máquina.
 - c. En **Instrument Control**, seleccione el botón **Start** [Inicio para iniciar la ejecución].
9. Pos-PCR

37 1 3



- a. **IMPORTANTE:** Una vez finalizada la ejecución, presione OK. Analice la información presionando el botón **"Analyze"** [Analizar] en el menú superior, y guarde el archivo.
- b. Guarde el archivo haciendo click sobre **Save Document** [Guardar Documento] en la barra de tareas. Se abrirá una ventana solicitando el "Reason for change of entry" [Motivo del cambio de datos]. Ingrese **"Data analysis post run"** [Análisis de Datos pos-ejecución] y cualquier otro comentario pertinente a la ejecución.

Protocolo de Amplificación para el Sistema Cepheid SmartCycler® II


1. Encienda el/los Bloque(s) SmartCycler.
2. Inicie el software versión 3.0b del Sistema Cepheid SmartCycler® II.
3. Seleccione el botón **Create Run** [Crear Ejecución] del menú en la parte superior de la pantalla para configurar la ejecución.
4. En **Run Name** [Nombre de la ejecución], ingrese un nombre para la ejecución actual (por ej. AAMMDD-Lyra Direct VZV).
5. En **Notes** [Notas], ingrese cualquier nota sobre la ejecución para referencia futura.
6. En **Assay** [Ensayo], seleccione el ensayo 'Lyra Direct VZV' del menú desplegable.
7. En **Assay Information** [Información del Ensayo], ingrese número de lote y fecha de vencimiento del kit.
8. Para seleccionar los pocillos que serán utilizados, elija una de las siguientes opciones:
 - a. Para asignar pocillos de forma automática:
 - i. En **Number of specimens** [Cantidad de muestras], ingrese la cantidad de muestras en el cuadro de texto provisto.
 - ii. Seleccione el botón **Apply** [Aplicar]. La cantidad de filas ingresadas aparecerá en la **Site Table** [Tabla de Posiciones].
 - b. Para elegir los pocillos de forma manual en los bloques de SmartCycler:
 - i. Seleccione el botón **Add/Remove Sites** [Añadir/Remover Posiciones] hacia la parte inferior de la pantalla.
 - ii. Esta acción abrirá la ventana emergente **Select Sites** [Seleccionar Posición] que tiene dos columnas. La columna de la izquierda (**Sites** [Posiciones]) enumera todas las posiciones disponibles, y la columna de la derecha (**Selections** [Selección]) contiene todas las posiciones seleccionadas.
 - iii. Para seleccionar todas las posiciones, haga click en el botón **Select All Sites** [Seleccionar Todas las Posiciones].
 - iv. Para seleccionar posiciones específicas, resalte una o más posiciones, y seleccione la flecha de la derecha para añadir la/s posición/posiciones a la columna **Selections**.
 - v. Seleccione el botón **OK** para cerrar la ventana. Las posiciones seleccionadas aparecerán en la **Site Table**.
9. Ingrese los identificadores de las muestras en la columna **Sample ID** [ID de Muestras] dentro de la **Site Table** (este paso también puede realizarse luego de comenzada la ejecución).
10. Ingrese cualquier nota en la columna **Notes**, y deje 'SPEC' en la columna **Sample Type**.
11. Seleccione el botón **Start Run** [Iniciar Ejecución] en la parte inferior de la pantalla.
12. Seleccione el botón **View Results** [Ver Resultados] para ver el progreso de la ejecución.
13. Guarde luego de que haya terminado y antes de salir del programa.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Interpretación de resultados utilizando Life Technologies QuantStudio™ Dx

Se revisan e interpretan los resultados impresos del instrumento en base a la siguiente tabla.

Interpretación de los Resultados de Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en Life Technologies QuantStudio™ Dx


BIOARS S.A.
BIOO CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

3773



Detector: HSV-1	Detector: HSV-2	Detector: VZV	Detector: Control de Proceso	Interpretación de los Resultados
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct ≤ 40.0	Negativo – No se detectó ADN viral HSV-1, HSV-2, y VZV; se detectó el PRC
Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	NA*	HSV-1 Positivo – Se detectó ADN viral HSV-1
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	NA*	HSV-2 Positivo – Se detectó ADN viral HSV-2
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	NA*	VZV Positivo – Se detectó ADN viral VZV
Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	NA*	HSV-1 y HSV-2 Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1 y HSV-2
Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	NA*	HSV-1 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1 y VZV
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	NA*	HSV-2 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-2 y VZV
Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	NA*	HSV-1, HSV-2 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1, HSV-2 y VZV
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Inválido – Inhibición del PCR o falla del reactivo. Volver a testear la misma muestra purificada. Si el testeo resulta inválido nuevamente, volver a preparar y volver a testear otra alícuota de la misma muestra u obtener una nueva muestra y volver a testear

*No se requiere ningún valor de Ct [ciclo umbral] para que el control de Proceso informe un positivo.

Interpretación de resultados utilizando Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

Se revisan e interpretan los resultados impresos del instrumento en base a la siguiente tabla.

Interpretación de los Resultados de Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en Applied Biosystems® 7500 Fast Dx				
Detector: HSV-1	Detector: HSV-2	Detector: VZV	Detector: Control de Proceso	Interpretación de los Resultados
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct ≤ 40.0	Negativo – No se detectó ADN viral HSV-1, HSV-2, y VZV; se detectó el PRC

BIOARS S.A.
BIOO. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

3713



Interpretación de los Resultados de Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en Applied Biosystems® 7500 Fast Dx				
Detector: HSV-1	Detector: HSV-2	Detector: VZV	Detector: Control de Proceso	Interpretación de los Resultados
Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	NA*	HSV-1 Positivo – Se detectó ADN viral HSV-1
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	NA*	HSV-2 Positivo – Se detectó ADN viral HSV-2
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	NA*	VZV Positivo – Se detectó ADN viral VZV
Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	NA*	HSV-1 y HSV-2 Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1 y HSV-2
Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	NA*	HSV-1 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1 y VZV
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	NA*	HSV-2 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-2 y VZV
Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	Ct > 1.0 o Ct < 40.0	NA*	HSV-1, HSV-2 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1, HSV-2 y VZV
Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Ct < 1.0 o Ct > 40.0	Inválido – Inhibición del PCR o falla del reactivo. Volver a testear la misma muestra purificada. Si el testeo resulta inválido nuevamente, volver a preparar y volver a testear otra alícuota de la misma muestra u obtener una nueva muestra y volver a testear

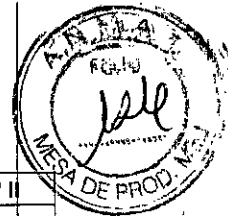
*No se requiere ningún valor de Ct [ciclo umbral] para que el control de Proceso informe un positivo.

Interpretación de resultados utilizando el Sistema Cepheid SmartCycler® II

1. Seleccione la solapa **View Results** [Ver Resultados] una vez que la ejecución haya terminado.
2. Seleccione la solapa **Sample Results** [Resultados de las Muestras].
3. El programa del Sistema Cepheid SmartCycler® II informará automáticamente si se ha detectado ADN viral de HSV-1, HSV-2 y/o VZV en las muestras o si la ejecución resultó inválida (no concluyente).
4. Se puede encontrar información más detallada en la solapa correspondiente a cada analito en la misma ventana. Si hay un positivo para HSV-1, HSV-2, o VZV (o cualquiera de sus combinaciones), el resultado del PRC no aplica. Solamente se requiere el PRC para negativos.

Interpretación de los Resultados de Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en el Sistema Cepheid SmartCycler® II					
Resultado del Ensayo	Detector: HSV-1	Detector: HSV-2	Detector: VZV	Detector: Control de Proceso	Interpretación de los Resultados

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO



Interpretación de los Resultados de Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en el Sistema Cepheid SmartCycler® II					
Resultado del Ensayo	Detector: HSV-1	Detector: HSV-2	Detector: VZV	Detector: Control de Proceso	Interpretación de los Resultados
Negativo	NEG	NEG	NEG	Pass	Negativo – No se detectó ADN viral HSV-1, HSV-2, y VZV; se detectó el PRC
HSV-1 Positivo	POS	NEG	NEG	NA*	HSV-1 Positivo – Se detectó ADN viral HSV-1
HSV-2 Positivo	NEG	POS	NEG	NA*	HSV-2 Positivo – Se detectó ADN viral HSV-2
VZV Positivo	NEG	NEG	POS	NA*	VZV Positivo – Se detectó ADN viral VZV
HSV-1 y HSV-2 Positivos	POS	POS	NEG	NA*	HSV-1 y HSV-2 Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1 y HSV-2
HSV-1 y VZV Positivos	POS	NEG	POS	NA*	HSV-1 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1 y VZV
HSV-2 y VZV Positivos	NEG	POS	POS	NA*	HSV-2 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-2 y VZV
HSV-1, HSV-2, y VZV Positivos	POS	POS	POS	NA*	HSV-1, HSV-2 y VZV Positivos – Se detectó ADN viral HSV-1, HSV-2 y VZV
Inválido	NEG	NEG	NEG	Fail	Inválido – Inhibición del PCR o falla del reactivo. Volver a testear la misma muestra purificada. Si el testeo resulta inválido nuevamente, volver a preparar y volver a testear otra alícuota de la misma muestra u obtener una nueva muestra y volver a testear

*No se requiere ningún valor para que el control de Proceso informe un positivo.

CONTROL DE CALIDAD

El Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV incorpora varios controles para monitorear el rendimiento del ensayo.

1. Debería utilizarse Control de Proceso durante las etapas de preparación y amplificación de muestras durante el ensayo. Se debe agregar este control a cada alícuota de muestra con anterioridad a la PCR.
2. Los controles positivos externos para HSV-1, HSV-2, y VZV disponibles en el mercado pueden tratarse como muestra de paciente y deben usarse conforme a los estándares de su laboratorio. Pueden utilizarse muestras previamente caracterizadas como positivas para HSV-1, HSV-2, y VZV en lugar de controles comerciales para HSV-1, HSV-2, y VZV.
3. Pueden utilizarse como control externo negativo medios de transporte viral o muestras caracterizadas

Handwritten signature
 BIOARK S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHER
 DIRECTOR TECNICO



previamente como negativas. Estas deben tratarse como muestra de paciente y deben usarse conforme a los estándares actuales de laboratorio.

LIMITACIONES

- Sólo se deben testear las muestras con Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV para los virus que haya solicitado el médico. Testar e informar sobre los virus adicionales no solicitados puede causar confusión y una demora en el diagnóstico debido a un resultado positivo inesperado.
- Se debe limitar las muestras utilizadas en el dispositivo a muestras de lesiones, indicativas de una infección activa.
- Un resultado negativo no es suficiente para descartar infección con HSV-1, HSV-2, o VZV, y por tanto no debería ser el único fundamento para decidir tratamiento.
- Al igual que con otros ensayos de este tipo, existe un riesgo de resultado de falsos negativos debido a la presencia de variantes en las secuencias en las dianas virales.
- La recolección, el almacenamiento o el transporte inadecuados pueden llevar a resultados de falsos negativos.
- Pueden aparecer falsos negativos por la presencia de inhibidores en la muestra y/o por errores en la aplicación del procedimiento del ensayo.
- Las instrucciones de programación provistas para cada instrumento son para su uso con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. No se ha verificado su uso para otros instrumentos o ensayos.
- No se ha verificado adecuadamente el rendimiento del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV para muestras de lesiones oculares o de narinas en el estudio clínico debido a la poca cantidad de muestras testeadas.

VALORES ESPERADOS

Se presentan a continuación los valores esperados observados para Life Technologies QuantStudio™ Dx, Applied Biosystems® 7500 Fast Dx, y el sistema Cepheid SmartCycler® II. La tabla proporciona los valores esperados para cada virus detectado en los tres instrumentos basados en edad del paciente y categorías específicas de lesión. El diseño del estudio no diferencia muestras en las que se solicitó un test HSV-1, HSV-2, VZV o si se solicitaron todos los tests en cada uno de los tests de las muestras. Las muestras incluidas en este estudio consisten en cualquier muestra enviada para pruebas por HSV o VZV que pueden haber incluido muestras para las que se solicitó testear tanto para HSV como para VZV. Por lo tanto, los valores esperados mostrados a continuación sólo reflejan los valores esperados para este diseño de estudio únicamente (muestras enviadas para testear por HSV-1, HSV-2 o VZV) y no reflejan valores de prevalencia del ADN de VZV en pacientes con presuntas infecciones cutáneas o mucocutáneas de VZV, o la prevalencia de ADN de HSV-1 y HSV-2 en pacientes con presuntas infecciones cutáneas o mucocutáneas de HSV.

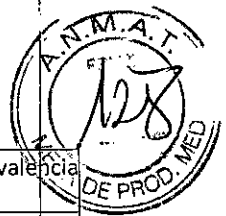
Life Technologies QuantStudio™ Dx

Valores Esperados (Cutáneos) (N = 279)*									
Edad	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
< 5 años	22	1	4.5%	22	1	4.5%	22	2	9.1%
6 a 21	30	8	26.7%	30	1	3.3%	30	1	3.3%
22 a 59	170	14	8.2%	170	33	19.4%	170	21	12.4%
> 60 años	56	5	8.9%	56	9	16.1%	56	12	21.4%

*1 muestra resultó inválida cuando se la testeó con Life Technologies QuantStudio™ Dx. No se la incluyó en el análisis.

Valores Esperados (Cutáneos) (N = 279)*			
Origen de la	HSV-1	HSV-2	VZV

31/1/13



muestra	Cant.	Total	Prevalencia	Cant.	Total	Prevalencia	Cant.	Total	Prevalencia
	Total	Positivo		Total	Positivo		Total	Positivo	
Lesión en la piel	213*	24	11.3%	213*	27	12.7%	213*	35	16.4%
Genital - pene	65	4	6.2%	65	17	26.2%	65	1	1.5%

*1 muestra resultó inválida cuando se la testeó con Life Technologies QuantStudio™ Dx. No se la incluyó en el análisis.

Valores Esperados (Mucocutáneos) (N = 650)*									
Edad	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
< 5 años	18	5	27.8%	18	0	N/A	18	0	N/A
6 a 21	130	26	20.0%	130	25	19.2%	130	1	0.8%
22 a 59	448	81	18.1%	448	81	18.1%	448	6	1.3%
≥ 60 años	53	4	7.5%	53	10	18.9%	53	2	3.8%

*1 muestra resultó inválida cuando se la testeó con Life Technologies QuantStudio™ Dx. No se la incluyó en el análisis.

Valores Esperados (Mucocutáneos) (N = 650)*									
Origen de la muestra	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
Anorectal	26	4	15.4%	26	6	23.1%	26	1	3.8%
Genital - vaginal/cervical	473*	75	15.9%	473*	107	22.6%	473*	4	0.8%
Nares	9	2	22.2%	9	0	N/A	9	0	N/A
Ocular	6	0	N/A	6	0	N/A	6	1	16.7%
Lesión oral	135	35	25.9%	135	3	2.2%	135	3	2.2%

*1 muestra resultó inválida cuando se la testeó con Life Technologies QuantStudio™ Dx. No se la incluyó en el análisis.

Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

Valores Esperados (Cutáneos) (N = 279)									
Edad	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
< 5 años	22	1	4.5%	22	1	4.5%	22	2	9.1%
6 a 21	30	8	26.7%	30	2	6.7%	30	1	3.3%
22 a 59	170	14	8.2%	170	31	18.2%	170	20	11.8%
≥ 60 años	57	4	7.0%	57	8	14.0%	57	10	17.5%

Valores Esperados (Cutáneos) (N = 279)									
Origen de la muestra	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
Lesión en la piel	214	24	11.2%	214	26	12.1%	214	33	15.4%
Genital - pene	65	3	4.6%	65	16	24.6%	65	0	N/A

Valores Esperados (Mucocutáneos) (N = 650)*									
Edad	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
< 5 años	18	5	27.8%	18	0	N/A	18	0	N/A

Handwritten signature/initials

Handwritten signature
 BIOARS S.A.
 BIO CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO

3793



6 a 21 años	130	25	19.2%	130	24	18.5%	130	1	0.8%
22 a 59	446	75	16.8%	446	75	16.8%	446	5	1.1%
≥ 60 años	53	3	5.7%	53	10	18.9%	53	1	1.9%

*Tres (3) muestras resultaron inválidas cuando se las testeó con Applied Biosystems® 7500 Fast Dx. No se las incluyó en el análisis.

Origen de la muestra	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
Anorectal	26	4	15.4%	26	6	23.1%	26	1	3.8%
Genital – vaginal/ cervical	471*	70	14.9%	471*	102	21.7%	471*	3	0.6%
Nares	9	1	11.1%	9	0	N/A	9	0	N/A
Ocular	6	0	N/A	6	0	N/A	6	1	16.7%
Lesión oral	135	33	24.4%	135	1	0.7%	135	2	1.5%

*Tres (3) muestras resultaron inválidas cuando se las testeó con Applied Biosystems® 7500 Fast Dx. No se las incluyó en el análisis.

Sistema Cepheid SmartCycler® II

Edad	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
< 5 años	22	1	4.5%	22	1	4.5%	22	2	9.1%
6 a 21	30	8	26.7%	30	1	3.3%	30	1	3.3%
22 a 59	169	15	8.9%	169	32	18.9%	169	23	13.6%
≥ 60 años	57	3	5.3%	57	9	15.8%	57	11	19.3%

*Una (1) muestra resultó inválida cuando se la testeó con Cepheid SmartCycler® II. No se la incluyó en el análisis.

Origen de la muestra	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
Lesión en la piel	213*	22	10.3%	213*	26	12.2%	213*	37	17.4%
Genital - pene	65	5	7.7%	65	17	26.2%	65	0	N/A

*Una (1) muestra resultó inválida cuando se la testeó con Cepheid SmartCycler® II. No se la incluyó en el análisis.

Edad	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
< 5 años	18	5	27.8%	18	0	N/A	18	0	N/A
6 a 21 años	130	29	22.3%	130	24	18.5%	130	1	0.8%
22 a 59	445	78	17.5%	445	76	17.1%	445	6	1.3%
≥ 60 años	53	4	7.5%	53	10	18.9%	53	2	3.8%

*Cuatro (4) muestras resultaron inválidas cuando se las testeó con Cepheid SmartCycler® II. No se las incluyó en el análisis.

[Handwritten Signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO



Valores Esperados (Mucocutáneos) (N = 650)*									
Origen de la muestra	HSV-1			HSV-2			VZV		
	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia	Cant. Total	Total Positivo	Prevalencia
Anorectal	26	4	15.4%	26	6	23.1%	26	1	3.8%
Genital – vaginal/ cervical	470*	75	16.0%	470*	103	21.9%	470*	4	0.9%
Nares	9	2	22.2%	9	0	N/A	9	0	N/A
Ocular	6	0	N/A	6	0	N/A	6	1	16.7%
Lesión oral	135	35	25.9%	135	1	0.7%	135	3	2.2%

*Cuatro (4) muestras resultaron inválidas cuando se las testeó con Cepheid SmartCycler® II. No se las incluyó en el análisis.

RENDIMIENTO CLÍNICO

Se realizó un estudio multicéntrico entre abril y octubre de 2013 a fin de evaluar el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV utilizando muestras de hisopado de lesiones obtenidas de lesiones cutáneas o mucocutáneas y enviadas para cultivo de HSV y/o VZV. Estas muestras fueron procesadas con el kit del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV y testeadas con Life Technologies QuantStudio™ Dx, Applied Biosystems® 7500 Fast Dx, y el Sistema Cepheid SmartCycler® II en tres sitios. También se procesó e inoculó cada muestra en dos (2) sistemas de cultivo de células diferentes dentro de las 72 horas posteriores a su recolección. Se realizó la aislación y e identificación de HSV-1 y HSV-2 utilizando la Prueba de Tipificación ELVIS HSV ID y D³ aprobada por la FDA. Esta prueba se realizó de conformidad con el inserto del producto provisto por el fabricante. Se realizó la detección y aislación del VZV mediante la tinción de células presentes en la muestra con un reactivo de detección de VZV (IFD en muestras) aprobado por la FDA y mediante el cultivo de muestras por 96 horas utilizando cultivos de células mixtos disponibles en el mercado (células mixtas de H&V^{3,4} de Diagnostic Hybrids, una empresa de Quidel) consistentes en células MRC-5 (fibroblasto diploide humano) y células CV-1 (riñón de mono verde africano), y tiñendo los cultivos con el mismo reactivo aprobado por la FDA utilizado para DSFA. Se consideró que una muestra era positiva para VZV si el IFD en muestra directa o el cultivo con Inmunofluorescencia Directa (IFD) resultaban positivos.

Se ha categorizado las muestras como cutáneas (lesión en la piel, pene), o mucocutáneas (anorectal, vaginal/cervical, y lesión oral). Abajo se enumeran los datos demográficos de género y edad para cada categoría.

Distribución por Edad y Género (Cutáneo)		
Género	Femenino	Masculino
Total	133	146
Edad		
< 5 años	6	16
6 a 21 años	18	12
22 a 59 años	72	98
> 22 años	37	20
Distribución por Edad y Género (Mucocutáneo)		
Género	Femenino	Masculino
Total	566	84
Edad		
< 5 años	10	8
6 a 21 años	106	24
22 a 59 años	403	46
> 22 años	47	6

Life Technologies QuantStudio™ Dx

Handwritten signature
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHAVE
 DIRECTOR TÉCNICO

Lesiones Cutáneas

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para HSV-1, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-1 con el dispositivo mencionado arriba. Una (1) muestra resultó inválida con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se la ha excluido de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-1 para las restantes doscientas setenta y ocho (278) muestras.

Resultados para HSV-1			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	24	4*	28
Negativo	0	250	250
Total	24	254	278
IC 95%			
Sensibilidad	24/24	100%	86.2% to 100%
Especificidad	250/254	98.4%	96.0% to 99.4%

* Uno (1) de los cuatro (4) positivos resultó positivo en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para HSV-2, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-2 con el dispositivo mencionado arriba. Una (1) muestra resultó inválida con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se la ha excluido de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-2 para las restantes doscientas setenta y ocho (278) muestras.

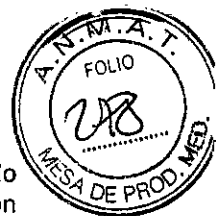
Resultados para HSV-2			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	35	9*	44
Negativo	0	234	234
Total	35	243	278
IC 95%			
Sensibilidad	35/35	100%	90.1% to 100%
Especificidad	234/243	96.3%	93.1% to 98.0%

* Nueve (9) de los nueve (9) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para VZV utilizando los sistemas de células mixtas de H&V con cultivo de células Inmunofluorescencia Directa (IFD) y también se las testeó con el dispositivo mencionado para ADN viral de VZV. Debido a la presencia de HSV-1 o HSV-2, se han excluido del análisis cincuenta y seis (56) muestras. Una (1) muestra resultó inválida para el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se han excluido estas cincuenta y siete (57) muestras del análisis. La siguiente tabla detalla los resultados de VZV para las restantes doscientas veintidós (222) muestras.

Resultados para VZV			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: DSFA y Cultivo con IFD		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	27	8*	35
Negativo	0	187	187
Total	27	195	222
IC 95%			
Sensibilidad	27/27	100%	87.5% to 100%
Especificidad	187/195	95.9%	92.1% to 97.9%

* Siete (7) de los ocho (8) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.



37913

Lesiones Mucocutáneas

Se cultivaron seiscientos cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para HSV-1, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-1 con el dispositivo mencionado. Tres (3) muestras fueron contaminadas en el cultivo de células ELVIS, y una (1) muestra resultó inválida con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se ha excluido estas cuatro (4) muestras de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-1 para las restantes seiscientos cuarenta y seis (646) muestras.

Resultados para HSV-1			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	100	16*	116
Negativo	3**	527	530
Total	103	543	646
IC 95%			
Sensibilidad	100/103	97.1%	91.8% to 99.0%
Especificidad	527/543	97.1%	95.3% to 98.2%

* Trece (13) de los dieciséis (16) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

** Tres (3) de los tres (3) negativos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron seiscientos cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para HSV-2, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-2 con el dispositivo mencionado. Tres (3) muestras fueron contaminadas en el cultivo de células ELVIS, y una (1) muestra resultó inválida con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se ha excluido estas cuatro (4) muestras de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-2 para las restantes seiscientos cuarenta y seis muestras.

Resultados para HSV-2			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	95	21*	116
Negativo	0	530	530
Total	95	551	646
IC 95%			
Sensibilidad	95/95	100%	96.1% to 100%
Especificidad	530/551	96.2%	94.2% to 97.5%

* Dieciocho (18) de los veintinueve (21) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron seiscientos cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para VZV utilizando los sistemas de células mixtas de H&V con cultivo de células Inmunofluorescencia Directa (IFD) y también se las testeó con el dispositivo mencionado para ADN viral de VZV. Debido a la presencia de HSV-1 o HSV-2, se han excluido del análisis doscientos diecisiete (217) muestras. Una (1) muestra resultó inválida para el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se han excluido estas doscientos dieciocho (218) muestras del análisis. La siguiente tabla detalla los resultados de VZV para las restantes cuatrocientas treinta y dos (432) muestras.

Resultados para VZV			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: IFD en muestras y Cultivo con IDF		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	4	5*	9
Negativo	0	423	423
Total	4	428	432

[Handwritten Signature]
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

31/7/3



IC 95%			
Sensibilidad	4/4	100%	51.0% to 100%
Especificidad	423/428	98.8%	97.3% to 99.5%

* Cinco (5) de los cinco (5) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Nota: La información presentada para la detección de VZV es consistente con la presencia limitada de VZV en lesiones mucocutáneas. El uso de lesiones mucocutáneas no tiene un impacto perceptible en las características de rendimiento del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV.

Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

Lesiones Cutáneas

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para HSV-1, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-1 con el dispositivo mencionado arriba. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-1 para las doscientas setenta y nueve (279) muestras.

Resultados para HSV-1			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	24	3*	27
Negativo	0	252	252
Total	24	255	279
IC 95%			
Sensibilidad	24/24	100%	86.2% to 100%
Especificidad	252/255	98.8%	96.6% to 99.6%

* Uno (1) de los tres (3) positivos resultó positivo en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para HSV-2, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-2 con el dispositivo mencionado arriba. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-2 para las doscientas setenta y nueve (279) muestras.

Resultados para HSV-2			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	34	8*	42
Negativo	1**	236	237
Total	35	244	279
IC 95%			
Sensibilidad	34/35	97.1%	85.5% to 99.5%
Especificidad	236/244	96.7%	93.7% to 98.3%

* Siete (7) de los ocho (8) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

** Uno (1) de los tres (3) negativos resultó positivo en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para VZV utilizando los sistemas de células mixtas de H&V con cultivo de células Inmunofluorescencia Directa (IFD) y también se las testeó con el dispositivo mencionado para ADN viral de VZV. Debido a la presencia de HSV-1 o HSV-2, se han excluido del análisis cincuenta y seis (56) muestras. La siguiente tabla detalla los resultados de VZV para las restantes doscientas veintitrés (223) muestras.

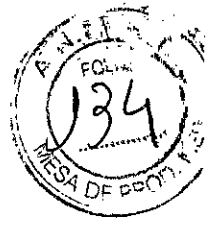
Resultados para VZV	
Ensayo Lyra™ Direct	Comparador: IFD en muestras y Cultivo con IDF

Ensayo Lyra Direct HSV 1 + 2/VZV

Página 42 de 55

Handwritten signature
BIOARS S.A.
BIOQ CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

3773



HSV 1 + 2/VZV	Positivo	Negativo	Total
Positivo	26	7*	33
Negativo	1**	189	190
Total	27	196	223
IC 95%			
Sensibilidad	26/27	96.3%	87.5% to 99.3%
Especificidad	189/196	96.4%	92.8% to 98.3%

* Siete (7) de los siete (7) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

** Uno (1) de un (1) negativo resultó positivo en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Lesiones Mucocutáneas

Se cultivaron seiscientos cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para HSV-1, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-1 con el dispositivo mencionado. Tres (3) muestras fueron contaminadas en el cultivo de células ELVIS, y tres (3) muestras resultaron inválidas con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se ha excluido estas seis (6) muestras de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-1 para las restantes seiscientos cuarenta y cuatro (644) muestras.

Resultados para HSV-1			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	98	10*	108
Negativo	5**	531	536
Total	103	541	644
IC 95%			
Sensibilidad	98/103	95.1%	89.1% to 97.9%
Especificidad	531/541	98.2%	96.6% to 99.0%

* Diez (10) de los diez (10) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

** Cinco (5) de los cinco (5) negativos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron seiscientos cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para HSV-2, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-2 con el dispositivo mencionado. Tres (3) muestras fueron contaminadas en el cultivo de células ELVIS, y tres (3) muestras resultaron inválidas con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se ha excluido estas seis (6) muestras de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-1 para las restantes seiscientos cuarenta y cuatro (644) muestras.

Resultados para HSV-2			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	93	16*	109
Negativo	2**	533	535
Total	95	549	644
IC 95%			
Sensibilidad	93/95	97.9%	92.6% to 99.4%
Especificidad	533/549	97.1%	95.3% to 98.2%

* Dieciséis (16) de los dieciséis (16) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

** Dos (2) de los dos (2) negativos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron seiscientos cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para VZV utilizando los sistemas de células mixtas de H&V con cultivo de células Inmunofluorescencia Directa (IFD) y también se las testeó con el dispositivo mencionado para ADN viral de VZV. Debido a la presencia de HSV-1 o HSV-2, se han excluido del análisis doscientos diecisiete (217) muestras. Tres (3) muestras resultaron inválida para el

Handwritten signature
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se han excluido estas doscientas veinte (220) muestras del análisis. La siguiente tabla detalla los resultados de VZV para las restantes cuatrocientas treinta (430) muestras.

Resultados para VZV			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: IFD en muestras y Cultivo con IDF		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	4	3*	7
Negativo	0	423	423
Total	4	426	430
IC 95%			
Sensibilidad	4/4	100%	51.0% to 100%
Especificidad	423/426	99.3%	98.0% to 99.8%

* Tres (3) de los tres (3) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Nota: La información presentada para la detección de VZV es consistente con la presencia limitada de VZV en lesiones mucocutáneas. El uso de lesiones mucocutáneas no tiene un impacto perceptible en las características de rendimiento del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV.

Sistema Cepheid SmartCycler® II

Lesiones Cutáneas

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para HSV-1, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-1 con el dispositivo mencionado arriba. Una (1) muestra resultó inválida con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se la ha excluido de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-1 para las restantes doscientas setenta y ocho (278) muestras.

Resultados para HSV-1			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	24	3*	27
Negativo	0	251	251
Total	24	254	278
IC 95%			
Sensibilidad	24/24	100%	86.2% to 100%
Especificidad	250/254	98.4%	96.0% to 99.4%

* Uno (1) de los tres (3) positivos resultó positivo en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para HSV-2, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-2 con el dispositivo mencionado arriba. Una (1) muestra resultó inválida con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se la ha excluido de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-2 para las restantes doscientas setenta y ocho (278) muestras.

Resultados para HSV-2			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	35	8*	43
Negativo	0	235	235
Total	35	243	278
IC 95%			
Sensibilidad	35/35	100%	90.1% to 100%
Especificidad	234/243	96.3%	93.1% to 98.0%



* Siete (7) de los ocho (8) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron doscientos setenta y nueve (279) muestras de lesiones cutáneas activas para VZV utilizando los sistemas de células mixtas de H&V con cultivo de células Inmunofluorescencia Directa (IFD) y también se las testeó con el dispositivo mencionado para ADN viral de VZV. Debido a la presencia de HSV-1 o HSV-2, se han excluido del análisis cincuenta y seis (56) muestras. Una (1) muestra resultó inválida para el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. La siguiente tabla detalla los resultados de VZV para las doscientas veintidós (222) muestras.

Resultados para VZV			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: IFD en muestras y Cultivo con IDF		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	27	10*	37
Negativo	0	185	185
Total	27	195	222
IC 95%			
Sensibilidad	27/27	100%	87.5% to 100%
Especificidad	185/195	94.9%	90.8% to 97.2%

* Seis (6) de los diez (10) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Lesiones Mucocutáneas

Se cultivaron seiscientos cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para HSV-1, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-1 con el dispositivo mencionado. Tres (3) muestras fueron contaminadas en el cultivo de células ELVIS, y cuatro (4) muestras resultaron inválidas con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se ha excluido estas siete (7) muestras de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-1 para las restantes seiscientos cuarenta y tres (643) muestras.

Resultados para HSV-1			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	101	15*	116
Negativo	2**	525	527
Total	103	540	643
IC 95%			
Sensibilidad	101/103	98.1%	93.2% to 99.5%
Especificidad	525/540	97.2%	95.5% to 98.3%

* Catorce (14) de los quince (15) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

** Dos (2) de los dos (2) negativos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron seiscientos cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para HSV-2, utilizando el sistema ELVIS de cultivo de células aprobado por la FDA, y también se las testeó para ADN viral HSV-2 con el dispositivo mencionado. Tres (3) muestras fueron contaminadas en el cultivo de células ELVIS, y cuatro (4) muestras resultaron inválidas con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se ha excluido estas siete (7) muestras de todo análisis subsiguiente. La siguiente tabla detalla los resultados de HSV-2 para las restantes seiscientos cuarenta y tres (643) muestras.

Resultados para HSV-2			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: Prueba de Tipificación ELVIS® HSV ID and D ³		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	94	16*	110
Negativo	1**	532	533

[Handwritten Signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO

Total	95	548	643
IC 95%			
Sensibilidad	94/95	98.9%	94.3% to 99.8%
Especificidad	532/548	97.1%	95.3% to 98.2%

* Dieciséis (16) de los dieciséis (16) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.
 ** El único (1) negativo resultó positivo en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Se cultivaron seiscientas cincuenta (650) muestras de lesiones mucocutáneas activas para VZV utilizando los sistemas de células mixtas de H&V con cultivo de células Inmunofluorescencia Directa (IFD) y también se las testeó con el dispositivo mencionado para ADN viral de VZV. Debido a la presencia de HSV-1 o HSV-2, se han excluido del análisis doscientos diecisiete (217) muestras. Cuatro (4) muestras resultaron inválidas para el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV. Se han excluido estas doscientas veintiuna (221) muestras del análisis. La siguiente tabla detalla los resultados de VZV para las restantes cuatrocientas veintinueve (429) muestras.

Resultados para VZV			
Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV	Comparador: IFD en muestras y Cultivo con IDF		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	4	5*	9
Negativo	0	420	420
Total	4	425	429
IC 95%			
Sensibilidad	4/4	100%	51.0% to 100%
Especificidad	420/425	98.8%	97.3% to 99.5%

* Cinco (5) de los cinco (5) positivos resultaron positivos en un ensayo de PCR en tiempo real adicional.

Nota: La información presentada para la detección de VZV es consistente con la presencia limitada de VZV en lesiones mucocutáneas. El uso de lesiones mucocutáneas no tiene un impacto perceptible en las características de rendimiento del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV.

RENDIMIENTO ANALÍTICO

Nivel de Detección

Se determinó la sensibilidad analítica (límite de detección o LoD) del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en cada instrumento en tres estudios separados utilizando stocks cuantificados (TCID₅₀/mL) de 2 cepas de HSV-1, 2 cepas de HSV-2 y 2 cepas de VZV diluidas de forma seriada en matriz negativa. Se procesó cada dilución en duplicados de 20 por concentración de virus y testeado en Life Technologies QuantStudio™ Dx, Applied Biosystems® 7500 Fast Dx, o el Sistema Cepheid SmartCycler® II. El testeado se realizó simultáneamente utilizando las mismas diluciones seriadas en cada instrumento. Se define la sensibilidad analítica como la concentración más baja a la que el 95% de todos los duplicados testeó positivo.

Instrumento	Virus TCID ₅₀ /mL					
	HSV-1 Macintyre	HSV-1 QC 316	HSV-2 Cepa G	HSV-2 QC Comp	VZV Ellen	VZV 130
Life Technologies QuantStudio™ Dx	2.18 x10 ³	5.69 x10 ³	2.44 x10 ³	2.53 x10 ²	1.68 x10 ⁰	2.33 x10 ¹
Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	4.35 x10 ³	1.14 x10 ⁴	2.44 x10 ³	5.05 x10 ²	3.35 x10 ⁰	2.33 x10 ¹
Cepheid SmartCycler® II System	5.44 x10 ²	1.14 x10 ⁴	2.44 x10 ³	1.01 x10 ³	8.38 x10 ⁻¹	2.33 x10 ¹

Claudia Etcheves
 BIOARS S.A.
 BIOQ CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO

317 1 3



Precisión – Repetibilidad

Para el estudio de Precisión/Repetibilidad Intralaboratorio, se testeó un panel ciego de cuatro componentes consistente en muestras positivas y negativas de HSV-1, HSV-2 y VZV por dos (2) operadores, dos veces al día (2x) durante doce (12) días en los tres instrumentos.

Resumen de Resultados para Life Technologies QuantStudio™ Dx						
Diana		Valores Ct [ciclo umbral] y Porcentaje Positivo (%)				
		Control Positivo	5X LoD	2X LoD	≤0.25X LoD	Matriz Negativa
HSV-1	Op 1 Promedio Ct	25.0	27.7	29.4	36.1	Neg
	Op 2 Promedio Ct	25.4	27.6	28.9	36.2	Neg
	Positividad	100	100	100	51	0
HSV-2	Op 1 Promedio Ct	26.3	28.3	29.0	37.2	Neg
	Op 2 Promedio Ct	26.3	28.2	29.0	37.6	Neg
	Positividad	100	100	100	63	0
VZV	Op 1 Promedio Ct	18.8	27.8	29.3	34.3	Neg
	Op 2 Promedio Ct	18.7	27.9	29.2	34.7	Neg
	Positividad	100	100	100	51	0

Resumen de Resultados para Applied Biosystems® 7500 Fast Dx						
Diana		Valores Ct [ciclo umbral] y Porcentaje Positivo (%)				
		Control Positivo	5X LoD	2X LoD	≤0.25X LoD	Matriz Negativa
HSV-1	Op 1 Promedio Ct	26.2	28.3	29.9	38.6	Neg
	Op 2 Promedio Ct	25.9	27.5	29.0	37.4	Neg
	Positividad	100	100	100	32	0
HSV-2	Op 1 Promedio Ct	25.4	29.1	30.1	37.2	Neg
	Op 2 Promedio Ct	25.8	28.4	29.6	36.8	Neg
	Positividad	100	100	100	75	0
VZV	Op 1 Promedio Ct	19.6	29.0	33.1	36.9	Neg
	Op 2 Promedio Ct	19.5	29.1	30.7	36.7	Neg
	Positividad	100	100	99	25	0

Resumen de Resultados para Sistema Cepheid SmartCycler® II						
Diana		Valores Ct [ciclo umbral] y Porcentaje Positivo (%)				
		Control Positivo	5X LoD	2X LoD	≤0.25X LoD	Matriz Negativa
HSV-1	Op 1 Promedio Ct	25.6	30.8	32.8	37.7	Neg
	Op 2 Promedio Ct	25.5	30.9	32.6	36.4	Neg
	Positividad	100	100	100	38	0
HSV-2	Op 1 Promedio Ct	27.2	32.4	33.5	37.9	Neg
	Op 2 Promedio Ct	27.6	32.2	33.4	37.7	Neg
	Positividad	100	100	100	65	0
VZV	Op 1 Promedio Ct	21.0	30.5	31.9	39.5	Neg
	Op 2 Promedio Ct	21.0	30.7	32.5	40.2	Neg
	Positividad	100	100	100	54	0

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO



3713

El Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV Assay produce resultados altamente reproducibles en los tres (3) instrumentos.

Reactividad Analítica (Inclusividad)

Se realizó un estudio sobre el instrumento Applied Biosystems® 7500 Fast Dx para demostrar que el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV detecta múltiples cepas de HSV-1, HSV-2 y VZV a concentraciones cercanas al LoD. El ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV testeó y detectó dieciséis (16) virus (cuatro HSV-1, cinco HSV-2, y siete VZV).

Resultados HSV-1									
Nro. de duplicado	Cepas HSV-1 y concentración del test (TCID ₅₀ /mL)								
	Macintyre (Control)		QC 316		SFG-029		Aislamiento clínico 7		
	8.70 x10 ³		8.70 x10 ³		4.84 x10 ³		8.70 x10 ³		
	HSV-1	PRC	HSV-1	PRC	HSV-1	PRC	HSV-1	PRC	PRC
1	30.0	30.3	32.4	29.0	38.4	29.4	32.3	29.6	
2	30.0	29.8	33.8	30.0	38.7	30.3	32.0	29.8	
3	30.0	30.2	33.8	30.0	38.6	30.2	31.7	29.7	
Promedio Ct	30.0	30.1	33.3	29.7	38.6	29.9	32.0	29.7	
SD	0.0	0.3	0.8	0.6	0.2	0.5	0.3	0.1	
CV%	0.00%	0.90%	2.40%	1.90%	0.40%	1.70%	1.00%	0.40%	

Resultados HSV-2											
Nro. de duplicado	Cepas HSV-2 y concentración del test (TCID ₅₀ /mL)										
	Cepa G (control)		Aislamiento clínico 6		Aislamiento clínico 9		Aislamiento clínico 10		Cepa M5		
	4.88 x10 ³		4.88 x10 ³		4.88 x10 ³		4.88 x10 ³		4.88 x10 ³		
	HSV-2	PRC	HSV-2	PRC	HSV-2	PRC	HSV-2	PRC	HSV-2	PRC	
1	29.2	30.6	31.8	26.2	31.0	26.1	30.8	26.6	26.4	26.1	
2	29.4	30.3	32.2	26.3	31.3	26.3	31.0	26.6	28.2	26.2	
3	29.3	30.2	32.3	26.4	30.8	26.2	30.3	25.8	28.2	26.1	
Promedio Ct	29.3	30.4	32.1	26.3	31.1	26.2	30.7	26.3	27.6	26.1	
SD	0.1	0.2	0.3	0.1	0.2	0.1	0.3	0.4	1.0	0.1	
CV%	0.4%	0.7%	0.8%	0.4%	0.7%	0.3%	1.1%	1.6%	3.6%	0.2%	

Resultados VZV														
Nro. de duplicado	Cepas VZV y concentración del test (TCID ₅₀ /mL)													
	130 (Control)		AV-92-3		Ellen		Aislamiento clínico B		Aislamiento clínico D		Cepa 82		Cepa 275	
	4.67 x10 ¹		4.67 x10 ¹		4.67 x10 ¹		4.67 x10 ¹		4.67 x10 ¹		4.67 x10 ¹		4.67 x10 ¹	
	VZV	PRC	VZV	PRC	VZV	PRC	VZV	PRC	VZV	PRC	VZV	PRC	VZV	PRC
1	30.2	32.1	29.0	26.5	27.0	26.1	29.8	26.5	26.5	26.4	28.4	26.9	27.6	26.3
2	30.8	30.7	29.8	26.2	26.9	26.3	27.4	26.7	27.7	26.5	27.9	26.4	28.0	26.5
3	30.8	30.5	29.5	26.1	26.9	26.3	29.2	26.3	27.4	26.8	28.5	26.7	27.8	26.4
Promedio Ct	30.6	31.1	29.4	26.3	26.9	26.2	28.8	26.5	27.2	26.6	28.3	26.7	27.8	26.4
SD	0.3	0.9	0.4	0.2	0.1	0.1	1.2	0.2	0.6	0.2	0.3	0.3	0.2	0.1
CV %	1.1%	2.8%	1.4%	0.9%	0.2%	0.3%	4.3%	0.7%	2.2%	0.8%	1.2%	1.0%	0.8%	0.4%

Estudio de Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en tres (3) laboratorios (dos externos, uno propio). Se evaluó la reproducibilidad utilizando un panel de seis (6) muestras simuladas que incluyen muestras positivas moderadas y positivas bajas, negativas altas y negativas de HSV-1, HSV-2, y VZV. Los

[Handwritten Signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVE
 DIRECTOR TECNICO



valores de LoD se basaron en los valores obtenidos en el estudio de LoD y se los presenta en la tabla siguiente.

Plataforma del Instrumento	Concentración Positiva Moderada			Positiva Baja			Positiva Alta		
	HSV-1	HSV-2	VZV	HSV-1	HSV-2	VZV	HSV-1	HSV-2	VZV
Life Technologies QuantStudio™ Dx	5x LoD	5x LoD	5x LoD	2x LoD	2x LoD	2x LoD	≤0.25x LoD	≤0.25x LoD	≤0.25x LoD
Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	5x LoD	5x LoD	5x LoD	2x LoD	2x LoD	2x LoD	≤0.3x LoD	≤0.3x LoD	≤0.3x LoD
Sistema Cepheid SmartCycler® II	5x LoD	5x LoD	5x LoD	2x LoD	2x LoD	2x LoD	≤0.3x LoD	≤0.3x LoD	≤0.3x LoD

Se procesaron y testearon paneles y controles en Life Technologies QuantStudio™ Dx, Applied Biosystems® 7500 Fast Dx, o el Sistema Cepheid SmartCycler® II. Se testearon paneles y controles en cada sitio a cargo de dos (2) operadores durante cinco (5) días (testeo por triplicado x 2 operadores x 5 días x 3 sitios = 90 resultados por nivel para cada virus)

Resultados de Reproducibilidad - Life Technologies QuantStudio™ Dx ®												
ID Componente del Panel	Sitio 1			Sitio 2			Sitio 3			Datos de Sitios Combinados		
	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV
Negativo Alto HSV-1	10/30	37.0	4.9	16/30	34.5	8.9	17/30	34.0	7.6	43/90	34.8	8.2
Positivo Bajo HSV-1	30/30	29.8	1.6	30/30	29.0	2.6	30/30	29.5	3.6	90/90	29.4	2.9
Positivo Moderado HSV-1	30/30	28.3	1.9	30/30	27.3	2.4	30/30	27.9	3.7	90/90	27.8	3.1
Negativo HSV-1	0/30	N/A	N/A	0/29*	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/89*	N/A	N/A
Negativo Alto HSV-2	30/30	34.8	3.0	30/30	31.9	4.7	28/30	34.1	6.2	88/90	33.6	6.0
Positivo Bajo HSV-2	30/30	32.8	1.4	30/30	32.0	2.3	30/30	31.8	3.6	90/90	32.2	2.9
Positivo Moderado HSV-2	30/30	30.8	3.8	30/30	29.8	2.8	30/30	30.8	4.2	90/90	30.5	3.9
Negativo HSV-2	0/30	N/A	N/A	0/29*	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/89*	N/A	N/A
Negativo Alto VZV	9/30	37.4	4.2	10/30	35.2	6.4	5/30	34.4	6.6	24/90	35.9	6.5
Positivo Bajo VZV	30/30	29.2	1.7	30/30	28.7	1.2	29/30	29.9	5.5	89/90	29.3	3.7
Positivo Moderado VZV	30/30	27.6	1.3	30/30	27.2	1.0	30/30	27.7	2.6	90/90	27.5	2.9
Negativo VZV	0/30	N/A	N/A	0/29*	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/89*	N/A	N/A
Control Positivo HSV-1	30/30	27.4	2.6	30/30	25.1	0.9	30/30	26.8	2.7	90/90	26.4	7.0
Control Positivo HSV-2	30/30	26.7	6.6	30/30	29.8	1.5	30/30	25.4	3.7	90/90	22.8	7.9
Control Positivo VZV	30/30	22.1	13.4	30/30	20.0	0.8	30/30	21.1	4.5	90/90	21.1	9.2

Handwritten signature
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVE
 DIRECTORA TECNICA



Control Negativo	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A
------------------	------	-----	-----	------	-----	-----	------	-----	-----	------	-----	-----

* No se detectó un duplicado de PRC. Se reportó el duplicado como inválido.

Resultados de Reproducibilidad - Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

ID Componente del Panel	Sitio 1			Sitio 2			Sitio 3			Datos de Sitios Combinados		
	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV
Negativo Alto HSV-1	9/30	36.2	3.6	9/30	35.0	10.1	12/29*	36.5	6.0	30/89*	36.1	7.6
Positivo Bajo HSV-1	30/30	30.3	1.8	30/30	30.3	3.4	30/30	30.2	2.6	90/90	30.3	2.7
Positivo Moderado HSV-1	30/30	28.8	2.4	30/30	28.5	2.6	30/30	29.5	8.1	90/90	28.9	5.4
Negativo HSV-1	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A
Negativo Alto HSV-2	30/30	35.4	3.7	30/30	34.2	5.8	24/30	36.0	6.0	84/90	35.2	5.5
Positivo Bajo HSV-2	30/30	32.8	4.2	30/30	33.6	3.8	30/30	32.7	5.9	90/90	33.0	4.8
Positivo Moderado HSV-2	30/30	31.2	2.1	30/30	31.3	2.9	30/30	31.9	4.3	90/90	31.5	3.4
Negativo HSV-2	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A
Negativo Alto VZV	0/30	N/A	N/A	3/30	33.8	6.2	0/30	N/A	N/A	3/90	33.8	6.2
Positivo Bajo VZV	29/30	31.5	4.4	29/30	31.5	4.6	30/30	32.1	6.2	88/90	31.7	5.2
Positivo Moderado VZV	30/30	29.4	2.5	30/30	29.2	2.1	30/30	30.9	9.1	90/90	29.8	6.2
Negativo VZV	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A
Control Positivo HSV-1	30/30	27.1	11.6	30/30	25.9	1.3	30/30	26.2	2.2	90/90	26.4	7.2
Control Positivo HSV-2	30/30	26.1	8.1	30/30	24.9	1.2	30/30	25.7	2.0	90/90	25.6	5.2
Control Positivo VZV	30/30	23.6	13.2	30/30	21.8	1.1	30/30	22.1	1.7	90/90	22.5	8.6
Control Negativo	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A

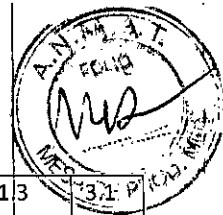
* No se detectó un duplicado de PRC. Se reportó el duplicado como inválido.

Resultados de Reproducibilidad – Sistema Cepheid SmartCycler® II

ID Componente del Panel	Sitio 1			Sitio 2			Sitio 3			Datos de Sitios Combinados		
	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV
Negativo Alto HSV-1	5/30	37.8	1.9	5/30	33.4	7.5	13/30	35.3	2.4	23/30	35.4	6.0

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA FETCHEVE
 DIRECTOR TECNICO



317 113

Positivo Bajo HSV-1	30/30	31.3	1.3	30/30	31.0	4.5	30/30	31.5	2.4	90/90	31.3	
Positivo Moderado HSV-1	29/29*	29.4	2.9	30/30	28.9	4.2	30/30	30.0	2.4	89/89*	29.5	3.6
Negativo HSV-1	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A
Negativo Alto HSV-2	24/30	38.5	5.1	27/30	36.6	6.5	17/30	37.3	4.4	68/90	37.4	5.8
Positivo Bajo HSV-2	30/30	36.2	3.3	29/30	35.8	2.5	30/30	35.8	4.9	89/90	36.0	3.7
Positivo Moderado HSV-2	29/29*	33.6	1.6	30/30	33.3	4.6	30/30	33.8	3.4	89/89*	33.6	2.5
Negativo HSV-2	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A
Negativo Alto VZV	0/30	N/A	N/A	1/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	1/90	N/A	N/A
Positivo Bajo VZV	29/30	33.4	7.0	29/30	32.7	2.8	30/30	36.2	10.7	88/90	34.1	8.9
Positivo Moderado VZV	29/29*	30.9	2.3	30/30	30.6	1.1	30/30	33.4	8.5	89/89*	31.6	6.7
Negativo VZV	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A
Control Positivo HSV-1	30/30	27.6	8.6	30/30	26.4	1.8	30/30	27.4	2.2	90/90	27.2	5.6
Control Positivo HSV-2	30/30	28.0	7.0	30/30	26.5	1.8	30/30	28.1	9.3	90/90	27.5	7.3
Control Positivo VZV	30/30	24.7	12.1	30/30	22.9	1.1	30/30	23.7	1.9	90/90	23.8	7.9
Control Negativo	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/30	N/A	N/A	0/90	N/A	N/A

* No se detectó un duplicado de PRC. Se reportó el duplicado como inválido.

Especificidad Analítica – Reactividad cruzada o Interferencia microbiana

Se realizó un estudio en Applied Biosystems® 7500 Fast Dx para evaluar si el rendimiento del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en presencia de otros setenta (70) microorganismos que pueden encontrarse en muestras de lesión. Se testeó cada microorganismo que potencialmente pudieran presentar interferencia o reactividad cruzada en presencia de virus HSV-1, HSV-2 y VZV a 2x LoD, o matriz negativa. Los niveles clínicamente relevantes de virus y bacterias son típicamente 10⁶ ufc/mL o más para bacterias y 10⁵ ufp/mL o más para virus.

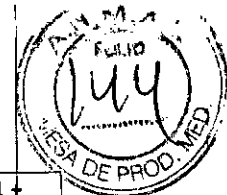
Organismo	Concentración del Ensayo	Resultado del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV			
		Matriz Negativa	HSV-1	HSV-2	VZV
Adenovirus 7	9.38 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Coronavirus OC43	1.79 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Coxsackievirus B4	2.60 x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Cytomegalovirus Towne VR-977	1.55 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Echovirus 11	1.61 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HHV-6	1.46 x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HHV-7	8.63 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HIV Virus	1.05 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
hMPV A1	1.24 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos

[Signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TECNICO

3713



Organismo	Concentración del Ensayo	Resultado del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV			
		Matriz Negativa	HSV-1	HSV-2	VZV
HSV-1 SFG029	3.27 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HSV-1 Macintyre	2.14 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HSV-2 MS	6.44 x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Cepa G de HSV-2	1.38 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Gripe A/Mexico/4108/2009	2.17 x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Gripe B Hong Kong VR-791	7.15 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Virus del sarampión	1.46 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Virus de las Paperas	2.07 x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Parainfluenza Tipo 1	4.02 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Parainfluenza Tipo 3	3.25 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Parainfluenza Tipo 4	1.28 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
VSR A Long	7.13 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
VSR B Washington	1.01 x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Virus de la Rubéola	9.45 x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Acholeplasma laidlawi</i>	5.33 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	8.78 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Bordetella pertussis</i>	1.41 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Clostridium perfringens</i>	1.18 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Mycoplasma hominis</i>	9.75 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	4.95 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Mycoplasma orale</i>	1.16 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	7.50 x10 ⁶ ccu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Mycoplasma salivarium</i>	1.25 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Enterovirus 70	3.83 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
Virus Epstein-Barr	1.67 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HBV	1.67 x10 ³ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HCV	1.67 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HHV-8	6.95 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
HPV	Not Available	Neg	Pos	Pos	Pos
Parainfluenza Tipo 2	5.23 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
VZV Ellen	8.75 x10 ² TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
VZV Webster	1.85 x10 ³ TCID ₅₀ /mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Chlamydia trachomatis</i>	5.00 x10 ⁵ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	2.67 x10 ³ cp/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Toxoplasma gondii</i>	1.10 x10 ⁶ tachyzoites/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Trichomonas vaginalis</i>	2.75 x10 ⁵ trophozoites/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	7.35 x10 ⁸ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Bacteroides fragilis</i>	5.67 x10 ⁵ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Candida albicans</i>	1.50 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Candida glabrata</i>	1.50 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	2.40 x10 ⁸ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.65 x10 ⁸ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Escherichia coli</i>	4.35 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Gardnerella vaginalis</i>	9.00 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Haemophilis influenzae type A</i>	6.30 x10 ⁸ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3.90 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1.35 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Legionella pneumophila</i>	2.85 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Mobiluncus mulieris</i>	1.91 x10 ⁸ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Moraxella cartarrhalis</i>	2.25 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2.40 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Proteus mirabilis</i>	9.60 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos



Organismo	Concentración del Ensayo	Resultado del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV			
		Matriz Negativa	HSV-1	HSV-2	VZV
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.25 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Salmonella enteritidis</i>	4.05 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Salmonella typhimurium</i>	3.45 x10 ⁷ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.38 x10 ⁹ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2.25 x10 ⁸ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.65 x10 ⁸ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.10 x10 ⁶ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2.85 x10 ⁸ cfu/mL	Neg	Pos	Pos	Pos
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Unable to titer	Neg	Pos	Pos	Pos

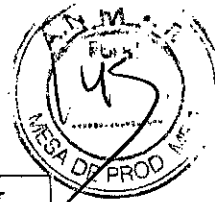
No se pudo obtener el organismo *Treponema pallidum* para el estudio del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV, y por lo tanto, fue necesario un análisis *in silico* para confirmar la no reactividad cruzada de los cebadores HSV-1, HSV-2, o VZV. El análisis *in silico* determinó que los tres pares de cebadores no presentan reactividad cruzada con *T. pallidum* bajo las condiciones del ensayo Lyra™. Por lo tanto, la presencia del organismo no debería interferir con el ensayo.

Ninguno de los otros setenta (70) microorganismos que pueden ser encontrados en muestras de lesiones interfiere con el ensayo.

Especificidad Analítica – Sustancias Interferentes o con Reactividad Cruzada

Se realizó un estudio en Applied Biosystems® 7500 Fast Dx para evaluar el rendimiento del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en presencia de veintiséis (26) sustancias interferentes/con reactividad cruzada a niveles clínicamente relevantes que puedan estar presente en muestras de lesiones.

Nombre de la Sustancia	Concentración Final de la Sustancia	Resultado del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV			
		Matriz Negativa	HSV-1	HSV-2	VZV
Fluido Seminal	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Almidón de maíz	2.5 mg/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Acetaminofén	10 mg/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Materia fecal	0.219%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Clorfeniramina	5 mg/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Dextrometorfano	5 mg/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Sangre entera con EDTA	0.625%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Orina de mujer	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Orina de hombre	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Aciclovir	7 mg/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Albumina	3.3 mg/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Caseína	7 mg/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Gel lubricante K-Y Jelly	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Ducha	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Miconazol 1	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Miconazol 3	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Tioconazol 1	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Preparation H	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Lanacane	3.5%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Listerine	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Abreva	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Lápiz de manteca de cacao Carmex	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Tratamiento Releev para llagas	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Crest	7%	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Mucina (glándula submaxilar de	60 µg/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo



3713

Nombre de la Sustancia	Concentración Final de la Sustancia	Resultado del Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV			
		Matriz Negativa	HSV-1	HSV-2	VZV
bovino, tipo I-S)					
Leucocitos	2.5e5 células/mL	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo

Ninguna de veintiséis (26) sustancias interfirieron con la detección de HSV-1, HSV-2, o VZV a 2x el LoD, o presentaron reactividad cruzada con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV.

Estudios de Contaminación de Arrastre y Cruzada

Se realizaron estudios sobre cada instrumento empleando un panel de 96 muestras consistente en 48 muestras con positivo alto y 48 muestras negativas. Cada muestra positiva alta contenía 1.00 x10⁵ TCID50/mL de cada analito (combinados en una muestra). La muestra negativa era una matriz negativa. Se analizaron las muestras de positivo alto de manera seriada alternando con muestras negativas. El testeo se repitió durante un período de 5 días.

En el transcurso de 5 días, no ocurrió contaminación cruzada ni arrastre de amplicones con el Ensayo Lyra™ Direct HSV 1 + 2/VZV en ninguno de los tres instrumentos.

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR Y ASISTENCIA TÉCNICA

Para hacer un pedido o solicitar servicio técnico, póngase en contacto con un representante de Quidel llamando al 800 874-1517 (teléfono en los EE. UU.) o al 858 552-1100 (fuera de los Estados Unidos), de lunes a viernes, de 8:00 a.m. a 5:00 p.m, hora de la costa este de Estados Unidos. También pueden realizarse pedidos por fax al 740 592- 9820. Para solicitar asistencia por correo electrónico, envíe mensaje a custserv@quidel.com o technicalsupport@quidel.com Para obtener asistencia fuera de los Estados Unidos, póngase en contacto con su distribuidor local. Puede obtener información adicional sobre Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores en nuestro sitio web: quidel.com.

Los compuestos para tinción en este producto se venden bajo licencia de BioSearch Technologies, Inc. Y están protegidos por patentes de los EE.UU y globales, ya emitidas o en proceso de solicitud.

La compra de este producto otorga al comprador derechos bajo ciertas patentes de Roche para su uso únicamente proporcionando servicios diagnósticos in vitro para humanos. No se otorga ninguna otra patente general u otra licencia de ningún tipo a excepción de este derecho específico de uso otorgado mediante la presente compra.

REFERENCIAS

1. National Health and Nutrition Examination Survey. 2007 – 2008 Data Documentation, Codebook, and Frequencies Herpes Simplex Virus Type-1 and Type-2 (HSV_E). Revised May, 2010. http://www.cdc.gov/nchs/nhanes/nhanes2007-2008/HSV_E.htm.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Viral Culture; Approved Guidelines. CLSI document M41-A [ISBN 1562386239] Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2006.
3. Huang YT, Hite S, Duane V, Yan H. CV-1 and MRC-5 mixed cells for simultaneous detection of herpes simplex viruses and varicella zoster virus in skin lesions. J Clin Virol. 2002 Feb; 24(1-2):37-43
4. Leland D, Ginocchio C. Role of Cell Culture for Virus Detection in the Age of Technology, Clin Microbiol Rev. Jan 2007; 20(1): 49–78.

E

BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDETTE FICHEVE
 DIRECTOR TÉCNICO



3713

REF

M102 – Kit de Ensayo Lyra Direct HSV 1+2/VZV

IVD



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Alemania

EC REP



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

GLOSARIO



Uso previsto

REF

Número de Catálogo

CONT

Contenidos/Contiene



Suficiente para 96 determinaciones

IVD

Uso diagnóstico *in vitro*

CONTROL

Control

LOT

Número de lote

EXP

Usar antes de

Rx ONLY

Uso bajo receta solamente



Consulte etiqueta electrónica para instrucciones de uso



Fabricante



Límite de temperatura

EC REP

Representante autorizado en la Unión Europea



CE Marca de Conformidad (Conformidad Europea)

M102en v2014MAY15

E
[Signature]

[Signature]
BIOARS S.A. /
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

3713



INDICACIÓN AL CONSUMIDOR

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S. A. pone a disposición del Cliente.

Establecimiento Elaborador: GUIDEL CORPORATION.
2005 E State St Suite 100, Athens, OH USA 45701.
Establecimiento Importador BIOARS S.A. - Santo Domingo 2578/80 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Directora Técnica: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica - Matrícula Nacional N° 7028.
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. Certificado N°.....

Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIOQ CLAUDETTE ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO



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

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


Expediente nº 1-47-3110-3530/15-0

Se autoriza a la firma BIOARS S.A. a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado 1) LYRA DIRECT HSV 1+2-VZV ASSAY/ ENSAYO PCR MÚLTIPLE EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA Y DIFERENCIACIÓN DEL ADN DE LOS VIRUS *herpes simplex tipo 1, herpes simplex tipo 2 y varicela-zoster*, AISLADO Y PURIFICADO DE MUESTRAS DE LESIONES CUTANEAS O MUCOCUTANEAS; 2) QUIDEL MOLECULAR HSV 1+2- VZV CONTROL SET/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON EL ENSAYO LYRA DIRECT HSV 1+2-VZV ASSAY. En envases por 1) 96 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: SOLUCIÓN DE REHIDRATACIÓN (1 vial x 1.9 ml), MASTER MIX DE HSV 1 + 2 - VZV LYRA DIRECT (12 viales), SOLUCIÓN TAMPÓN DE PROCESO (2 viales x 1.5 ml); 2) CONTROL POSITIVO HSV 1 + 2 - VZV (1 vial x 1.1 ml) y CONTROL NEGATIVO (1 vial x 1.1 ml). Vida útil: 1) y 2) DOCE (12) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2-8 °C. Se le asigna la categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones establecidas en la Ley N° 16.463 y Resolución Ministerial N° 145/98. Lugar de elaboración: QUIDEL CORPORATION. 2005 East State Street Suite 100, Athens, OH 45701. (USA). En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA. Certificado n° **008387**

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA

Buenos Aires, **11 ABR 2016**



Firma y sello

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