



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-006033-22-0

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-006033-22-0 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones BioSystems S.A. solicita autorización para la venta de Productos para diagnóstico in vitro denominado: Seegene.

Que en el expediente de referencia 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 se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

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

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

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

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología

Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Nombre descriptivo: Allplex™ Genital ulcer Assay, de acuerdo con lo solicitado por BioSystems S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-126044485-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 626-175 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Allplex™ Genital ulcer Assay

Marca comercial: Seegene

Indicación/es de uso:

Allplex™ Genital ulcer Assay es una prueba in vitro cualitativa para la detección única o múltiple de Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), H. ducreyi (HD), Cytomegalovirus (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV, C. trachomatis Serovar L), T. pallidum (TP), y Varicella-zoster virus (VZV) a partir de muestras de orina, hisopo genital y citología en medio líquido por PCR en tiempo real.

Modelos:

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD9802X) x 100 determinaciones:

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD9802Y) x 50 determinaciones:

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD10177Z) x 25 determinaciones:

Forma de presentación: Allplex™ Genital ulcer Assay (SD9802X) x 100 determinaciones:

- 1) 4X GU MOM (Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección) 1 x 500 µL
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG); Buffer que contiene dNTPs) 1 x 500 µL.
- 3) GU PC (Control Positivo (PC): Mezcla de patógeno y clones) 1 x 50 µL.
- 4) ASTI IC (Control Interno (IC) de muestras de orina) 1 x 1.000 µL

5) RNase-free Water (Calidad ultrapura, grado PCR) 1 x 1.000 μ L

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD9802Y) x 50 determinaciones:

- 1) 4X GU MOM (Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección) 1 x 250 μ L
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG); Buffer que contiene dNTPs) 1 x 250 μ L.
- 3) GU PC (Control Positivo (PC): Mezcla de patogeno y clones) 1 x 25 μ L.
- 4) ASTI IC (Control Interno (IC) de muestras de orina) 1 x 500 μ L
- 5) RNase-free Water (Calidad ultrapura, grado PCR) 1 x 1.000 μ L

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD10177Z) x 25 determinaciones:

- 1) 4X GU MOM (Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección) 1 x 125 μ L
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG); Buffer que contiene dNTPs) 1 x 125 μ L.
- 3) GU PC (Control Positivo (PC): Mezcla de patogeno y clones) 1 x 50 μ L.
- 4) ASTI IC (Control Interno (IC) de muestras de orina) 1 x 250 μ L
- 5) RNase-free Water (Calidad ultrapura, grado PCR) 1 x 1.000 μ L

Período de vida útil y condición de conservación: Este producto tiene estabilidad para usarse durante 12 meses, conservado a (-20°C).

Nombre del fabricante:

Seegene Inc.

Lugar de elaboración:

Seegene Inc. / Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul 05548, República de Corea.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-006033-22-0

N° Identificadorio Trámite: 41795

AM

Allplex™

Genital ulcer Assay

(Núm. Cat. SD9802X, SD10177Z)

Sistema PCR multiplex en tiempo real para la detección de Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), *Haemophilus ducreyi* (HD), *Cytomegalovirus* (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV, *Chlamydia trachomatis* Serovar L), *Treponema pallidum* (TP), y Varicella-zoster virus (VZV) a partir de muestras de orina, hisopo genital y citología en medio líquido.

Para usar solo con

1. Microlab NIMBUS IVD y Microlab STARlet IVD
2. Seegene NIMBUS y Seegene STARlet

Para usar con

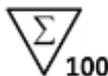
1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)



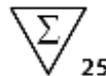
Solo para diagnóstico *in vitro*



SD9802X



SD10177Z



Seegene Inc.,

Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul, República de Corea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Alemania

No está disponible en Estados Unidos

Farm. Eduardo Omar Rigolosi
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ÍNDICE

AVISOS	3
USO PREVISTO	4
PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS	5
INFORMACIÓN GENERAL	7
REACTIVOS	9
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN	11
MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS	11
PROTOCOLO	12
CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	18
RESULTADOS	38
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	41
RENDIMIENTO	43
REFERENCIAS	49
SÍMBOLOS	50
INFORMACIÓN DE PEDIDO	52

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

AVISOS

- Solo para diagnóstico in vitro.
- La fiabilidad de los resultados depende de que las muestras sean adecuadamente recogidas, almacenadas, transportadas y procesadas.
- **Este producto está destinado solo para uso en conjunto con el Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet con un máximo de 5 ejecuciones por separado.**
- **Este test se ha validado para los siguientes tipos de muestras: muestra de orina, hisopo genital y citología en medio líquido.** Este test no ha sido aprobado para ningún otro tipo de muestra.
- **Almacene las muestras de DNA a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ hasta que se vayan a usar y consérvelas en baño de hielo durante su uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede disminuir si las muestras se congelan y descongelan repetidas veces o si se almacenan durante mucho tiempo.
- El flujo de trabajo en el laboratorio debería desarrollarse de manera unidireccional.
- Deben llevarse siempre guantes desechables en cada zona y cambiarlos antes de entrar en las diferentes zonas. En caso de que se contaminen, se deben cambiar inmediatamente o tratar con un reactivo descontaminante de DNA.
- Destine materiales y equipamiento a estaciones de trabajo separadas y no los mueva de una zona a otra.
- No se debe pipetear con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las zonas de trabajo del laboratorio. Al manipular las muestras y reactivos, han de llevarse guantes sin talco desechables, bata de laboratorio y protección en los ojos. Deben lavarse bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del test.
- Evite contaminar los reactivos al quitar las partes alícuotas de los tubos de reactivos. Se recomienda usar puntas de pipeta desechables estériles, resistentes a los aerosoles.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
- No use el producto después de su fecha de caducidad.
- No reúse los elementos desechables.
- Use tubos con tapa de rosca y evite cualquier posible salpicadura o contaminación cruzada de las muestras durante la preparación.
- Por favor, tenga cuidado de no contaminar los reactivos con ácidos nucleicos extraídos, productos de PCR y control positivo. Para evitar la contaminación de los reactivos, se recomienda utilizar puntas con filtro.

- Use zonas de trabajo separadas para cada experimento.
- Para evitar la contaminación de áreas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos de reacción o cintas PCR solamente en las áreas de trabajo asignadas, después de la amplificación.
- Los materiales positivos se han de almacenar separados de los reactivos del kit.
- Deben adoptarse los procedimientos de seguridad de laboratorio (consulte los documentos de Bioseguridad en los laboratorios microbiológicos y biomédicos y CLSI) al manipular las muestras. Limpie y desinfecte exhaustivamente todas las superficies de trabajo con hipoclorito de sodio al 0,5% (agua desionizada o destilada). Los componentes del producto (sus residuos, envoltorio) pueden considerarse residuos de laboratorio. Deseche los reactivos sin utilizar y los residuos conforme a las normativas nacionales, regionales y locales de aplicación.
- La fecha de caducidad es de 12 meses desde la fecha de fabricación, a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Por favor, consulte la etiqueta para comprobar la fecha de caducidad.
- El Seegene NIMBUS y el Seegene STARlet son los mismos equipos que el Microlab NIMBUS IVD y el Microlab STARlet IVD, solo que el fabricante es distinto. Ya que no existen cambios en el hardware del dispositivo, los resultados de las pruebas son iguales.
- El nombre de la marca “CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD” pasó a ser “CFX96™ Dx System”. Ya que no se hicieron cambios al hardware del sistema, se espera que se obtengan los mismos resultados con ambos sistemas.
- El “CFX Manager™ Dx Software v3.1” es la versión actualizada del “CFX Manager™ Software-IVD v1.6”. El software actualizado incluye mejoras al menú “Run” (Ejecutar). Estas mejoras no afectan los resultados del análisis de datos; por lo que los resultados serán los mismos.
- Este kit está destinado a asistir en el diagnóstico diferencial de las infecciones por patógenos objetivo;
Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), *H. ducreyi* (HD), *Cytomegalovirus* (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV), *C. trachomatis* Serovar L), *T. pallidum* (TP), y Varicella-zoster virus (VZV)

USO PREVISTO

Allplex™ Genital ulcer Assay es una prueba *in vitro* cualitativa para la detección única o múltiple de Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), *H. ducreyi* (HD), *Cytomegalovirus* (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV), *C. trachomatis* Serovar L), *T. pallidum* (TP), y Varicella-zoster virus (VZV) a partir de muestras de orina, hisopo genital y citología en medio líquido.

PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS**1. Principios**

Allplex™ Genital ulcer Assay presenta tecnología MuDT™ propiedad de Seegene, que permite proporcionar valores multi-Ct (ciclo umbral) en un único canal de fluorescencia sin análisis de curva de Melting por PCR en tiempo real.

Allplex™ Genital ulcer Assay es un ensayo PCR en tiempo real que permite la amplificación y detección simultánea del Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), *H. ducreyi* (HD), *Cytomegalovirus* (CMV), *Lymphogranuloma venereum* (LGV), *T. pallidum* (TP), virus varicella-zoster (VZV) y Control Interno (IC).

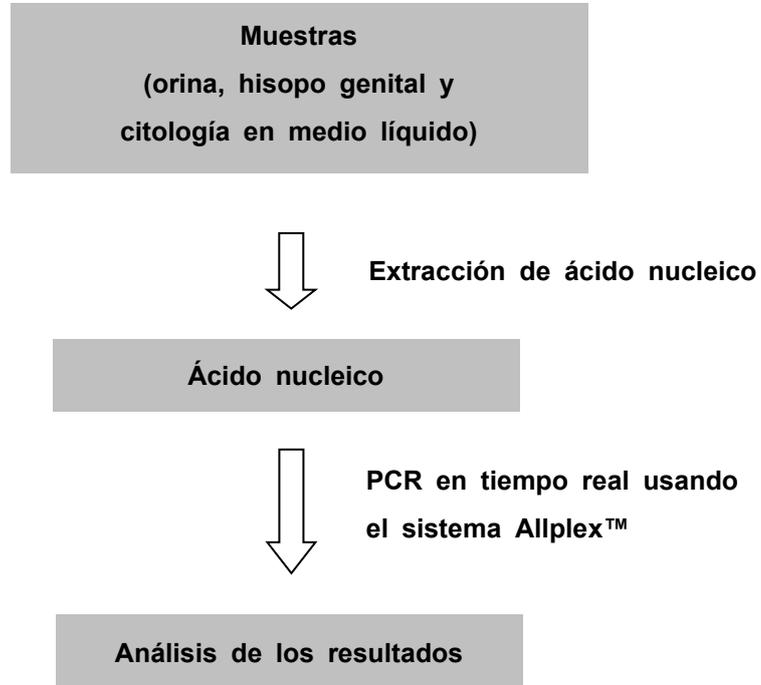
En Allplex™ Genital ulcer Assay, se utiliza un gen humano endógeno como Control Interno (IC) para supervisar todo el proceso desde la recogida de muestras hasta la extracción de ácido nucleico, así como para constatar cualquier posible inhibición de la PCR. La eficiencia de la PCR se puede reducir mediante inhibidores que pueden estar presentes en las muestras clínicas. Sin embargo, debido a los desajustes en la cantidad de células humanas de la orina, el IC se añade de forma exógena solo a las muestras de orina y se usa como un control exógeno de todo el proceso. El IC es coamplificado con ácidos nucleicos objetivo dentro de la muestra clínica.

Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, en Allplex™ Genital ulcer Assay se utiliza un sistema de Uracil-DNA glicosilasa (UDG). La función natural de la UDG es prevenir la mutagénesis eliminando el uracilo de las moléculas de DNA por escisión del enlace N-glucosídico e iniciar el mecanismo de reparación por escisión de bases (BER). Por lo tanto, los sistemas de UDG se utilizan para controlar la contaminación cruzada de las muestras con amplicones.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Información sobre el procedimiento



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN GENERAL

Las úlceras genitales tienen un amplio diagnóstico diferencial, y pueden surgir a raíz de causas infecciosas y no infecciosas. Las causas infecciosas incluyen virus del herpes simple (HSV), sífilis (*Treponema pallidum*), chancroide (*Haemophilus ducreyi*), granuloma inguinal (donovanosis), linfogranuloma venereo (*Chlamydia trachomatis* serotipos L1, L2, L3), hongos (por ejemplo, *Candida*) e infecciones bacterianas secundarias.

Con frecuencia, un diagnóstico basado solo en el historial médico del paciente y en una exploración física es impreciso. Por lo tanto, todos los pacientes que tengan úlceras genitales, anales o perianales deberán examinarse con un test serológico para detectar sífilis y una evaluación de diagnóstico para detectar herpes genital. En los contextos en los que el chancroide es frecuente, deberá también llevarse a cabo un test para detectar *Haemophilus ducreyi*.

1. Herpes simplex virus (HSV)

Los Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) y type 2 (HSV-2) son virus DNA bicatenarios grandes. El HSV-1 y HSV-2 comparten una estructura genómica similar, con un 40% de homologías de secuencias y un 83% de homología de sus regiones codificantes de proteínas.

El herpes genital es una infección viral de por vida crónica. Se ha identificado que hay dos tipos de HSV que causan herpes genital: HSV-1 y HSV-2. La mayoría de las personas infectadas con HSV-2 no han sido diagnosticadas de herpes genital. Muchas de ellas tienen infecciones leves o no reconocidas, pero transmiten intermitentemente el virus en el tracto genital. Como resultado, la mayoría de las infecciones de herpes genitales las transmiten las personas que no son conscientes de que la tienen o que son asintomáticas cuando tiene lugar la transmisión.

2. Sífilis

La sífilis es una enfermedad sistémica causada por *Treponema pallidum* (TP). La sífilis es una enfermedad crónica transmitida sexualmente que se caracteriza por manifestaciones intensas y largos periodos de quiescencia. La sífilis venérea se transmite como resultado de contacto sexual con una lesión infecciosa de las membranas mucosas o eritema vulvar, o por vía transplacentaria de una mujer embarazada a su feto. En los hombres, la lesión se encuentra normalmente en el sulcus coronario, en la glándula o en el cuerpo del pene, y en las mujeres, se encuentra en la vulva, las paredes vaginales o el cuello del útero.

3. Lymphogranuloma venereum (LGV)

Lymphogranuloma venereum (LGV) viene causado por *Chlamydia trachomatis* serovars L1, L2

o L3. LGV es una infección sistémica invasiva y, si no se trata temprano, LGV proctocolitis puede llevar a estenosis y fístulas colorrectales crónicas. La manifestación clínica más común de LGV entre los heterosexuales es la linfadenopatía femoral o inguinal, que normalmente es unilateral. Entre las mujeres, pueden participar las glándulas perirrectales y pélvicas profundas si la lesión primaria se encuentran en el cuello del útero, y el paciente puede presentar síntomas compatibles con la enfermedad inflamatoria pélvica (PID, sus siglas en inglés) grave.

4. Chancroide

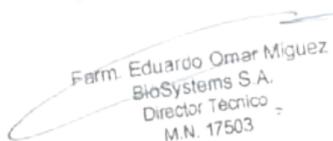
El chancroide está causado por *Haemophilus ducreyi* (HD) y la enfermedad se transmite exclusivamente por el contacto sexual, con una invasión directa del organismo a través de la piel saludable o descamada. El chancroide produce úlceras en los genitales, normalmente en el sulcus coronario del pene en los hombres y en la vulva en las mujeres. La úlcera es dolorosa, irregular y con bordes indeterminados, y normalmente no es indurada. Estas son las características clásicas que diferencian el chancroide de las úlceras sifilíticas. El chancroide, así como los herpes genitales y la sífilis, es un factor de riesgo en la transmisión de la infección del VIH.

5. Varicella zoster virus (VZV)

El herpes zoster (HZ) es una manifestación clínica de la reactivación del Varicella-zoster virus (VZV). El HZ de la zona genital masculina es una condición pocas veces notificada. Se han descrito casos individuales de infección anogenital y vulvar reconocida con VZV en adultos, asimismo también se han notificado casos de infección genital con este agente en niños. El VZV puede ser una causa de las infecciones genitales virales que ha recibido escasa atención, especialmente en pacientes de 16 a 50 años de edad.

6. Cytomegalovirus (CMV)

El *Cytomegalovirus* (CMV) puede causar enfermedad mortal en pacientes inmunodeprimidos, como aquellos con el virus de la inmunodeficiencia (VIH). Es una causa escasa pero importante de ulceración en el trato genital femenino.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 100 reacciones.

Información de pedido (**REF** SD9802X)

Allplex™ Genital ulcer Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	4X GU MOM	500 µL	Mezcla de oligos de MuDT (MOM): - Reactivos de amplificación y detección
PREMIX	EM1	500 µL	- Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs
CONTROL +	GU PC	50 µL	Control Positivo (PC) - Mezcla de patógenos y clones
CONTROL IC	ASTI IC	1.000 µL	Control Interno (IC) para la muestra de orina
WATER	RNase-free Water	1.000 µL	Calidad ultrapura, grado PCR
	Manual de usuario		

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 25 reacciones.

Información de pedido (**REF** SD10177Z)

Allplex™ Genital ulcer Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	4X GU MOM	125 µL	Mezcla de oligos de MuDT (MOM): - Reactivos de amplificación y detección
PREMIX	EM1	125 µL	- Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs
CONTROL +	GU PC	50 µL	Control Positivo (PC) - Mezcla de patógenos y clones
CONTROL IC	ASTI IC	250 µL	Control Interno (IC) para la muestra de orina
WATER	RNase-free Water	1.000 µL	Calidad ultrapura, grado PCR
	Manual de usuario		

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ Genital ulcer Assay deben almacenarse a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Este producto se puede usar durante 30 días después de la apertura inicial del kit y el rendimiento no se ve afectado por hasta 5 ciclos de congelación y descongelación. Si se van a utilizar los reactivos solo de forma intermitente, deben almacenarse en partes alícuotas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

- Guantes desechables sin talco (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubos de microcentrifugación de 1,5 mL
- Productor de hielo
- Centrifugadora de sobremesa
- Centrifuga de microplaca
- Mezclador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- Tiras de 8 tubos de perfil bajo de 0,2 mL sin tapas (color blanco, Núm. Cat. TLS0851, Bio-Rad)
- Tiras de 8 tapas planas ópticas (Núm. Cat. TCS0803, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco (Núm. Cat. HSP9655, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco, código de barras (Núm. Cat. HSP9955, Bio-Rad)
- Sello de calor permanente y transparente (Núm. Cat. 1814035, Bio-Rad)*
- PX1 PCR Sellador de placas (sellador automático, Núm. Cat. 181-4000, Bio-Rad)*
- Solución salina
- Mesa de trabajo limpia

* Asegúrese de usar el sello térmico y el sellador de placas listados arriba juntos.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PROCOLO**1. Recogida de muestras, almacenamiento y transporte**

Nota: Todas las muestras se deben tratar como material potencialmente infeccioso. Solo se permiten los materiales de las muestras que se recojan, almacenen y transporten de acuerdo con las siguientes normas e instrucciones de forma rigurosa.

Muestra de orina**Muestra de hisopo genital****Muestra de citología en medio líquido**

Nota: Para garantizar la alta calidad de las muestras, estas se han de transportar lo más rápido posible, y según las condiciones de temperatura indicadas.

A. Recogida de muestras**Muestra de orina**

- Se debe advertir al paciente de que no orine durante al menos dos horas antes de recoger la muestra.
- Recoja 10~30 mL de la primera orina en un recipiente limpio de polipropileno. Cierre y etiquete el recipiente de la muestra. Siga estrictamente las instrucciones para el almacenamiento y transporte.

Muestra de hisopo genital

Para recoger los hisopos genitales, use los siguiente materiales:

- Los hisopos genitales se pueden recoger y transportar en 1~3 mL de los siguientes medios:
 - ENAT PM 2ML REGULAR APPLICATOR
(APLICADOR PARA VÍA NASAL ENAT PM 2ML) (Copan)
 - UTM with Flocked Swabs (UTM con hisopos flocados) (Copan)
 - Swab Specimen Collection Kit (Kit para recoger muestras de hisopos) (Qiagen Corporation)
- Deje el hisopo en el medio de transporte. Cierre y etiquete el recipiente de la muestra. Siga estrictamente las instrucciones para el almacenamiento y transporte.
- Siga un protocolo recomendado para recoger las células de epitemio escamoso y columnar después de retirar la mucosa cervical.

Muestra de citología en medio líquido

- Use el medio citológico en medio líquido ThinPrep® de HOLOGIC® Inc. y SurePath™ de BD.
- Siga las instrucciones del fabricante para recoger las muestras de células cervicales en los medios ThinPrep® y SurePath™.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

Muestras	Almacenamiento y transporte		Nota
	Temp.	Duración*	
Muestra de orina	2~8°C	1 semana	- El rendimiento puede verse afectado por el almacenamiento a largo plazo de la muestra. - Las muestras también deben adherirse a las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno.
Muestra de hisopo genital	2~8°C	1 semana	
Medio ThinPrep®	2~8°C	6 semanas	
Medio SurePath™	2~8°C	2 semanas	

* **Duración** : Tiempo desde la recogida de muestras hasta la realización del test, incluyendo el almacenamiento y el transporte de las muestras antes de la realización del test.

2. Extracción de ácido nucleico
A. Tratamiento previo de las muestras
Muestras de hisopos genitales

- Las muestras de hisopos genitales se usan sin tratamiento previo.

Muestras de orina

Opcional: Se puede omitir el pretratamiento. Pero se puede reducir la sensibilidad en comparación con los casos en los que se haga el proceso de pretratamiento

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19~25°C).
- Centrifugue 1 mL de orina durante 15 minutos a 15.000 x g (13.000 rpm).
- Debe desecharse el sobrenadante. A continuación, hay que suspender de nuevo el sedimento en el volumen recomendado de solución salina (véase volumen recomendado de 2.C-1, 2.C-2) agitándolo bien en un mezclador de vórtice.
- Siga el protocolo del fabricante.

Muestras de citología cervical en medio líquido

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19~25°C).
- Centrifugue 1 mL de muestra de citología cervical en base líquida durante 15 minutos a 15.000 x g (13.000 rpm).
- Debe desecharse el sobrenadante. A continuación, hay que suspender de nuevo el sedimento en el volumen recomendado de solución salina (véase volumen recomendado de 2.C-1, 2.C-2) agitándolo bien en un mezclador de vórtice.

Nota: Proceda al paso de pretratamiento usando el tampón de lisis en la solución no salina del kit de extracción si las muestras se recogen en el medio SurePath™, y se deben analizar con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet.

- Siga el protocolo del fabricante.

B. Control Interno

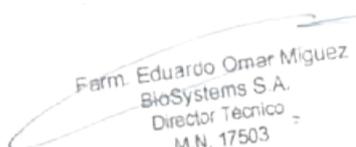
Nota: Para las demás muestras, excepto la orina, se usa el gen endógeno para el control interno. Por lo tanto, no se necesita el IC adicional que se incluye en el kit.

Nota: En el kit se incluye el ASTI IC. Este permite a los usuarios confirmar no solo el procedimiento de extracción de ácido nucleico, sino también identificar cualquier inhibición de PCR.

- Para la muestra de orina se debe cargar 10 µL de ASTI IC a cada muestra antes de la extracción del ácido nucleico.

C. Sistema de extracción de ácido nucleico automatizado

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C-1. Microlab NIMBUS IVD

Nota: Véase el manual de funcionamiento de **Microlab NIMBUS IVD**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Microlab NIMBUS IVD	Hamilton	65415-02*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

* Si quiere comprar este producto de Seegene Inc., use este número de catálogo.

C-2. Microlab STARlet IVD

Nota: Véase el manual de funcionamiento de **Microlab STARlet IVD**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Microlab STARlet IVD	Hamilton	173000-075*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

* Si quiere comprar este producto de Seegene Inc., use este número de catálogo.

C-3. Seegene NIMBUS

Nota: Véase el manual de funcionamiento de **Seegene NIMBUS**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Seegene NIMBUS	Seegene	65415-03	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17583

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C-4. Seegene STARlet

Nota: Véase el manual de funcionamiento de **Seegene STARlet**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Seegene STARlet	Seegene	67930-03	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

3. Preparación de PCR en tiempo real

Nota: Deben usarse los tubos, tapas y máquinas de sellado adecuados. (Véase MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS)

Nota: Deben usarse filtros resistentes a los aerosoles y guantes ajustados al preparar las reacciones de PCR. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: Descongele totalmente todos los reactivos en baño de hielo.

Nota: Centrifugue brevemente los tubos de reactivos para eliminar las gotas de dentro de la tapa.

Nota: Los pasos A a D se procesan automáticamente en Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet. Consulte cada manual de operación.

A. Prepare la PCR Mastermix.

5 µL	4X GU MOM
5 µL	EM1
5 µL	RNase-free Water
15 µL	Volumen total de Mastermix de PCR

Nota: Calcule la cantidad que se necesita de cada reactivo necesario en función del número de reactivos (muestras + controles).

B. Mezcle invirtiendo unas 5 veces o agítelo rápido en un mezclador de vórtice, y centrifugue brevemente.

C. Alicuote 15 µL de PCR Mastermix en los tubos de PCR.

D. Añada 5 µL de ácido nucleico de cada muestra en el tubo que contiene la PCR Mastermix.

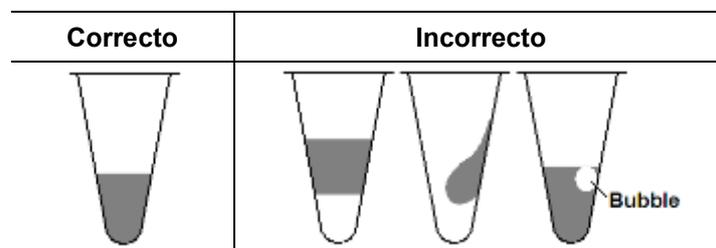
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

15 µL	Mastermix de PCR
5 µL	Ácido nucleico de la muestra
20 µL	Volumen total de la reacción

- E.** Cierre la tapa y centrifugue brevemente los tubos de PCR.
- F.** Verifique que el líquido que contienen todos los componentes de PCR se encuentre en el fondo de cada tubo de PCR. Si no es así, centrifugue de nuevo a mayores rpm durante más tiempo.

Nota: Los tubos de PCR deben centrifugarse antes de iniciar la reacción de PCR. Es necesario hacer que el líquido vaya al fondo y así elimine las burbujas de aire.



Nota: Con cada muestra, use una nueva punta de pipeta estéril.

Nota: Para el **Control Negativo (NC)**, use 5 µL de **RNase-free Water** en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el **Control Positivo (PC)**, use 5 µL de **GU PC**.

Nota: Tenga cuidado de que no se produzca una contaminación cruzada del Mastermix de PCR y de las muestras con el Control Positivo.

Nota: No etiquete el tubo de reacción en su tapa. La fluorescencia se detecta desde la parte superior de cada tubo de reacción.

Nota: En lugar de usar una tapa, utilice el PX1 PCR plate sealer cuando emplee el Permanent clear heat seal.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)

1.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: La configuración del experimento en el CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

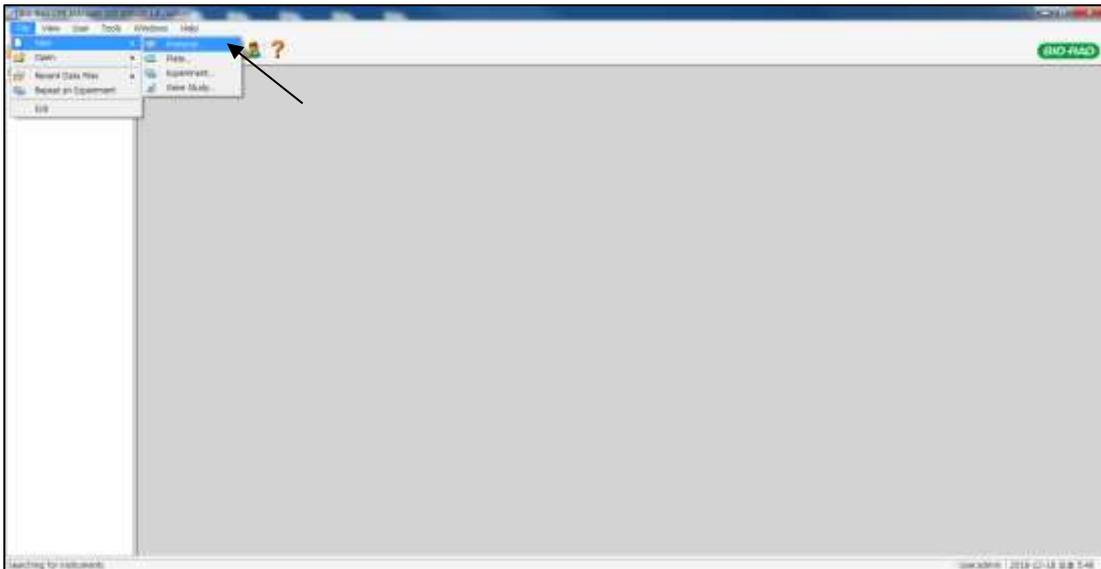


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

Paso	No. de ciclos	Temperatura	Duración
1	1	50°C	4 min
2		95°C	15 min
3	5	95°C	30 seg
4		60°C	1 min
5		72°C	30 seg
6	GOTO Paso 3, 4 veces más		
7	40	95°C	10 seg
8*		60°C	1 min
9*		72°C	10 seg
10	GOTO Paso 7, 39 veces más		

Nota*: Lectura de placa en el paso 8 y 9. La fluorescencia se detecta a 60°C y 72°C.

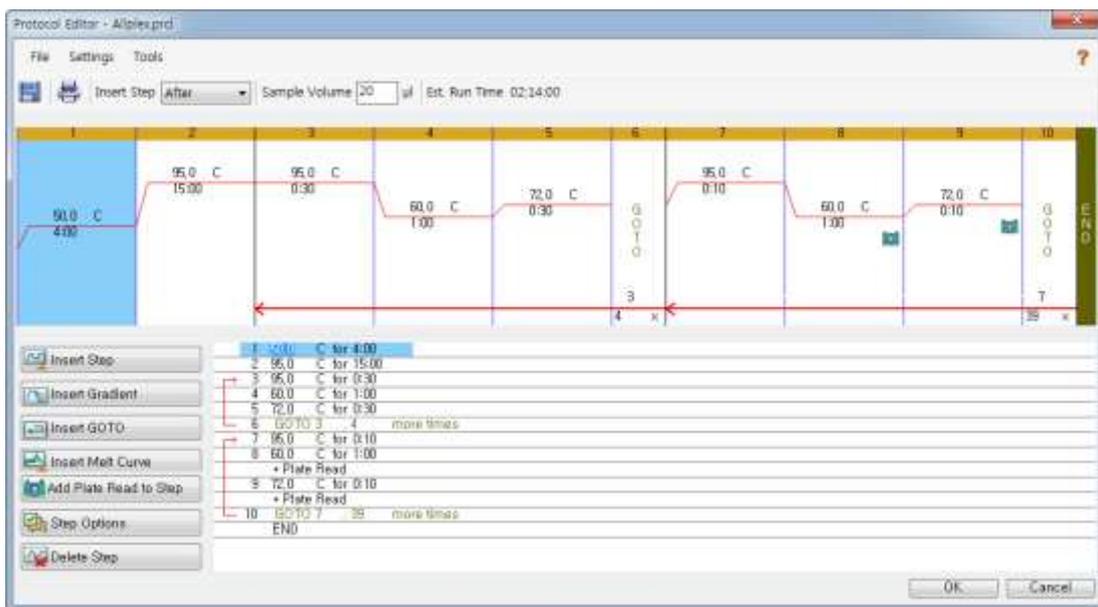


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente **20 µL**.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

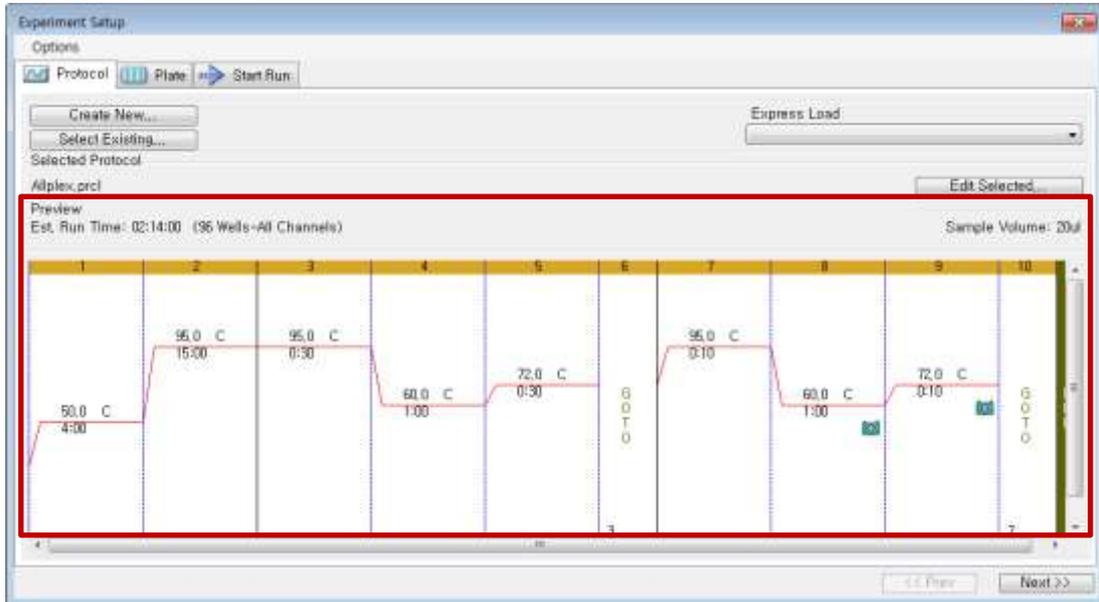


Fig. 3. **Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)**

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

- 1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

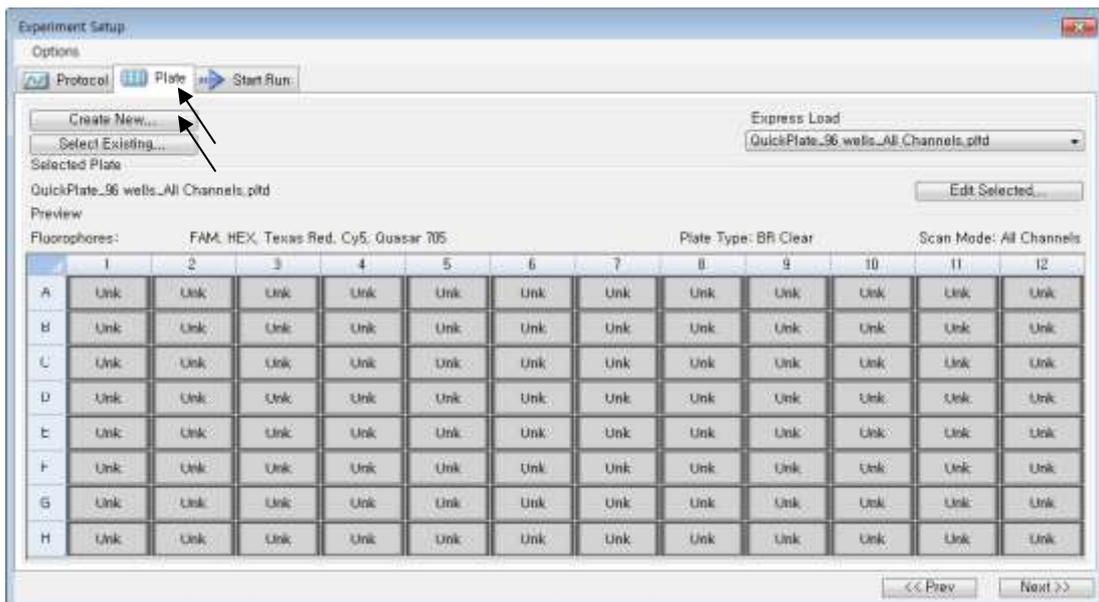


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placa)**

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

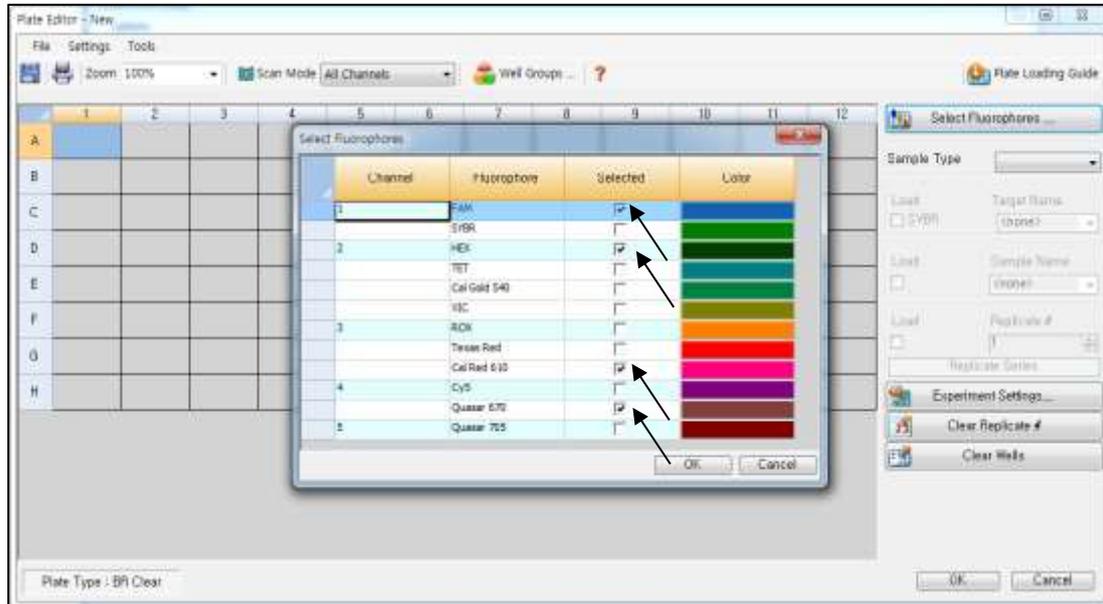


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (**FAM, HEX, Cal Red 610, y Quasar 670**)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type (Tipo de Muestra)**.

- **Unknown (Desconocidos):** muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

4) Haga clic en las casillas de verificación adecuadas (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y presione la tecla Intro.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

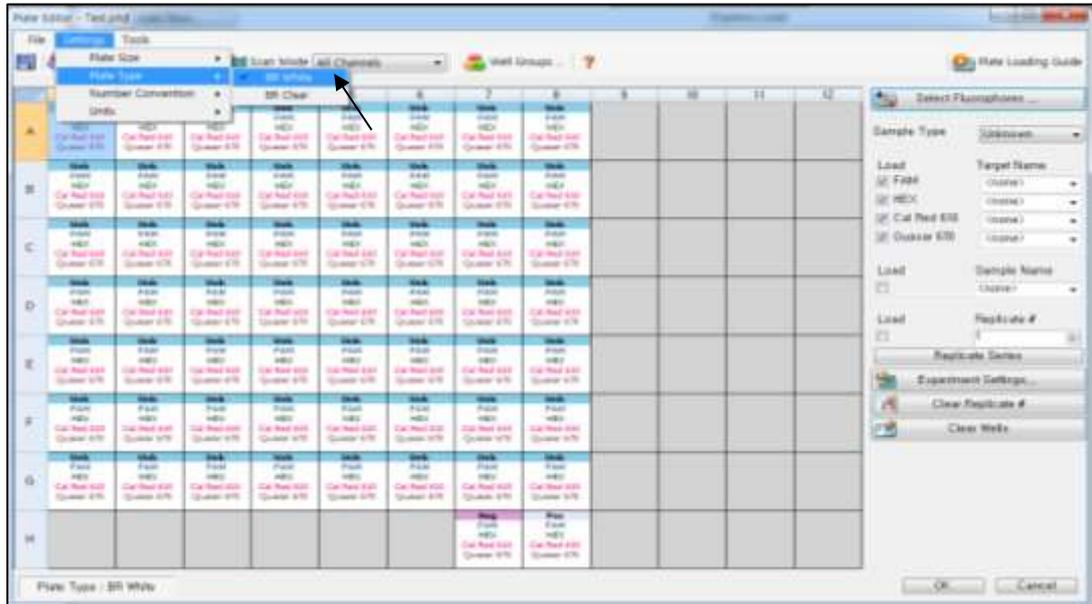


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.

8) Regresará a la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

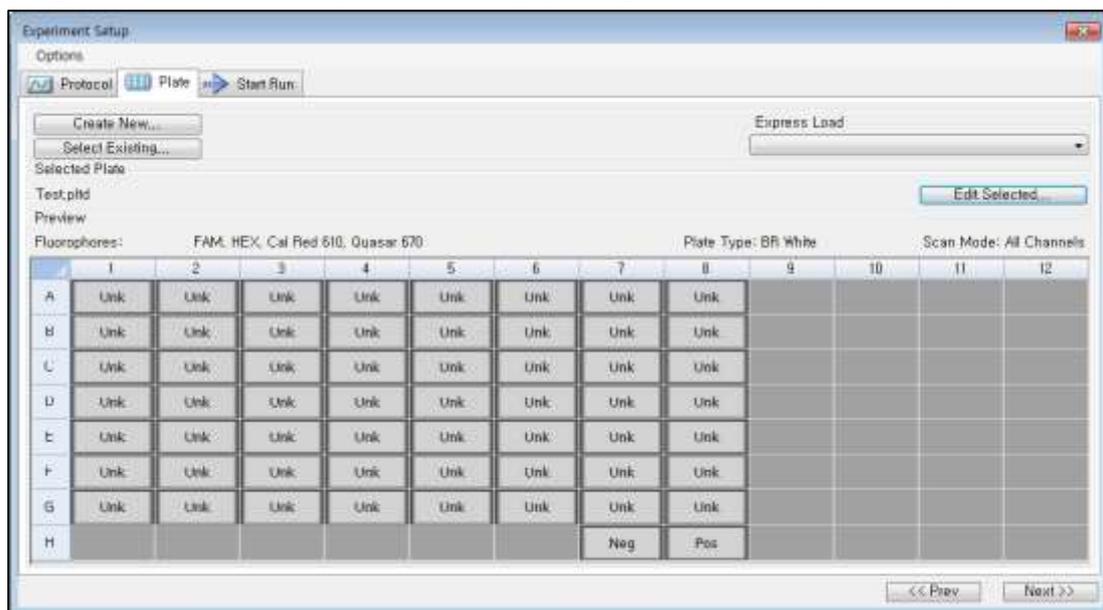


Fig. 7. Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiente)** para Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

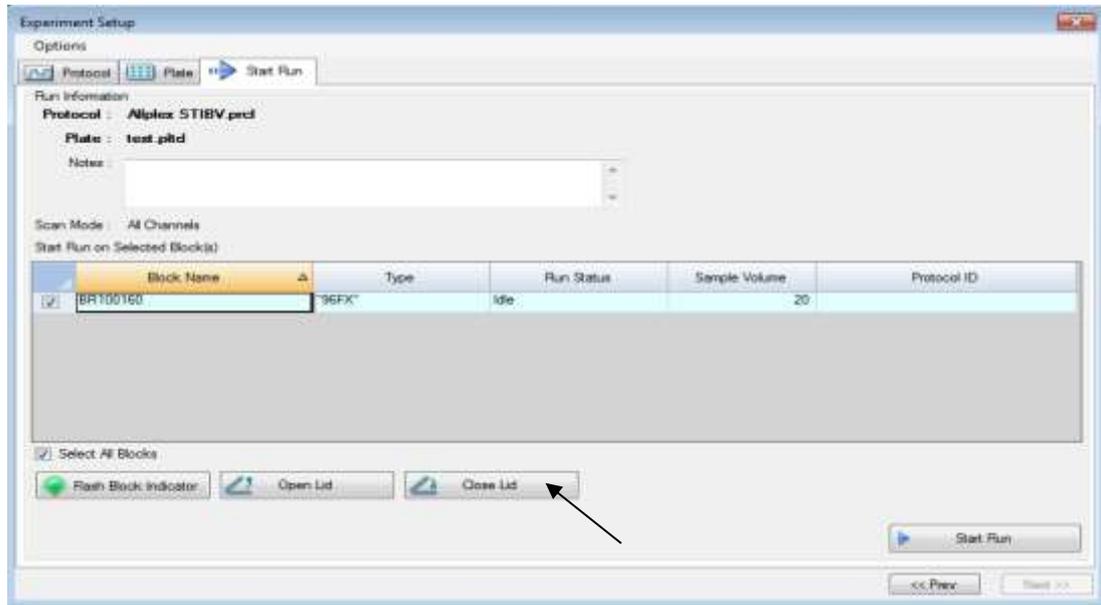


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

1.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Para guardar los datos de todos los pasos de detección de la curva de Melt a partir del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función "Seegene Export (Exportar Seegene)", se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep8" y "QuantStep9" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Configuración previa para el análisis Gestor de CFX Manager™

1) Después del test, haga clic en la pestaña Quantitation (Cuantificación) para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

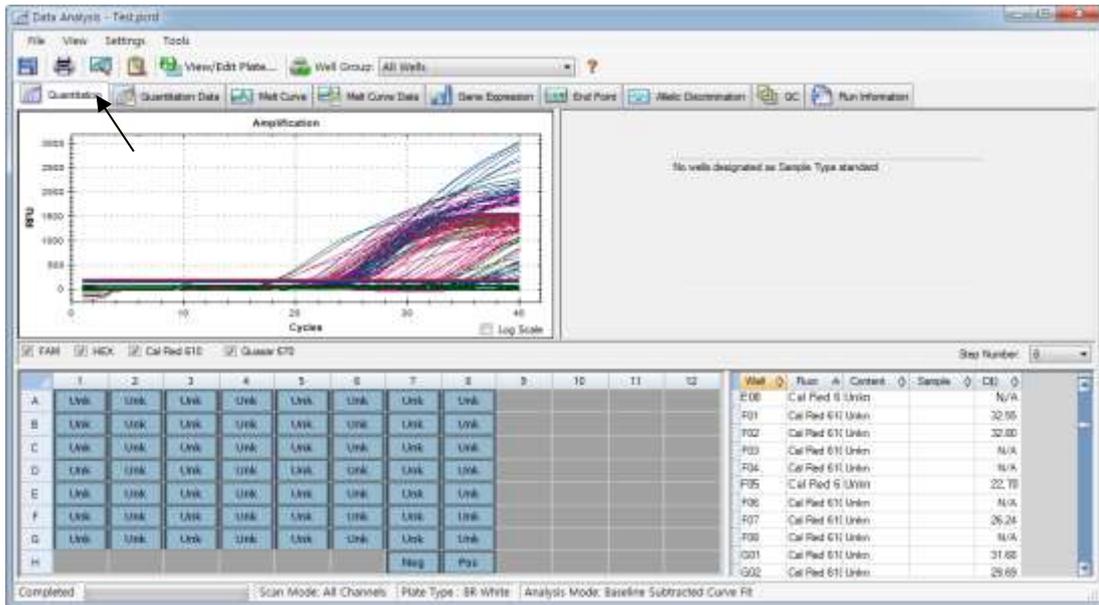


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el Analysis Mode (Modo Análisis) del menú Settings (Configuración).

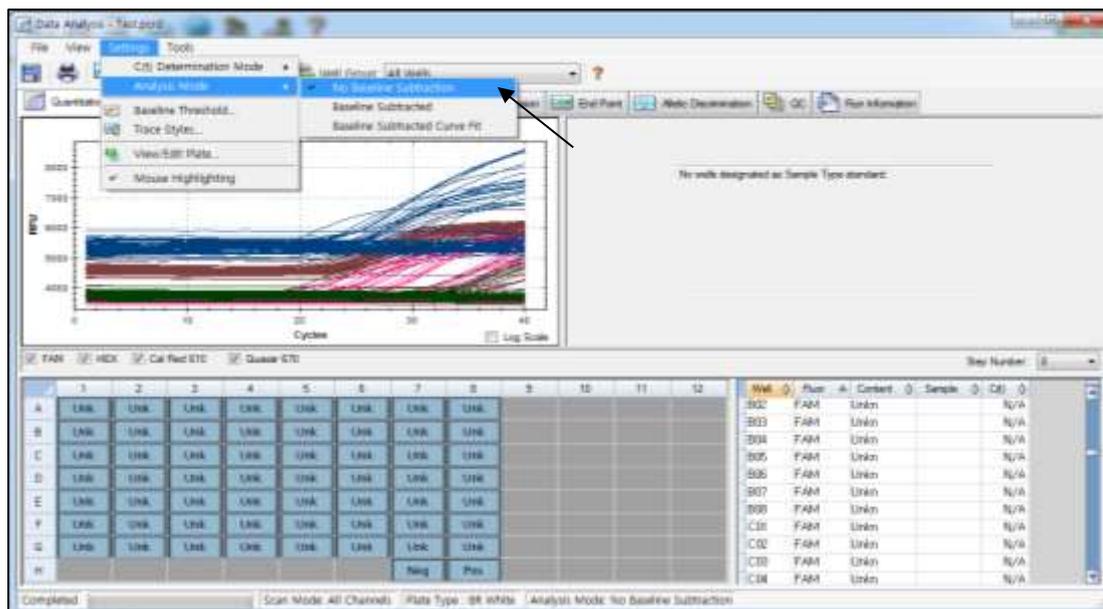


Fig. 10. No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)

3) Seleccione **Seegene Export (Exportar Seegene)** en el menú Tools (Herramientas).

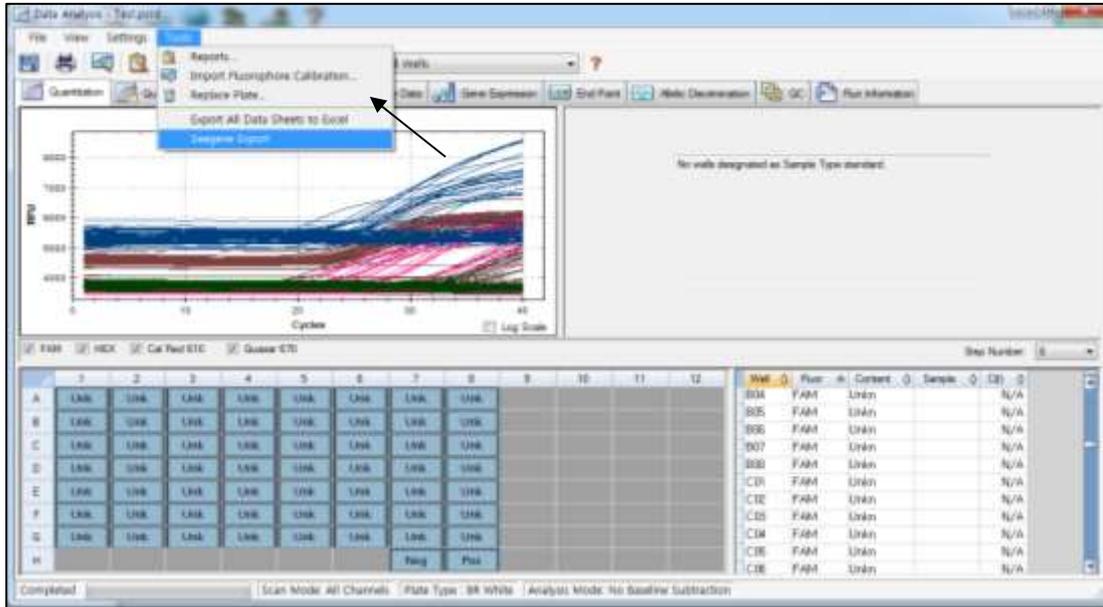


Fig. 11. **Seegene Export (Exportar Seegene)**

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

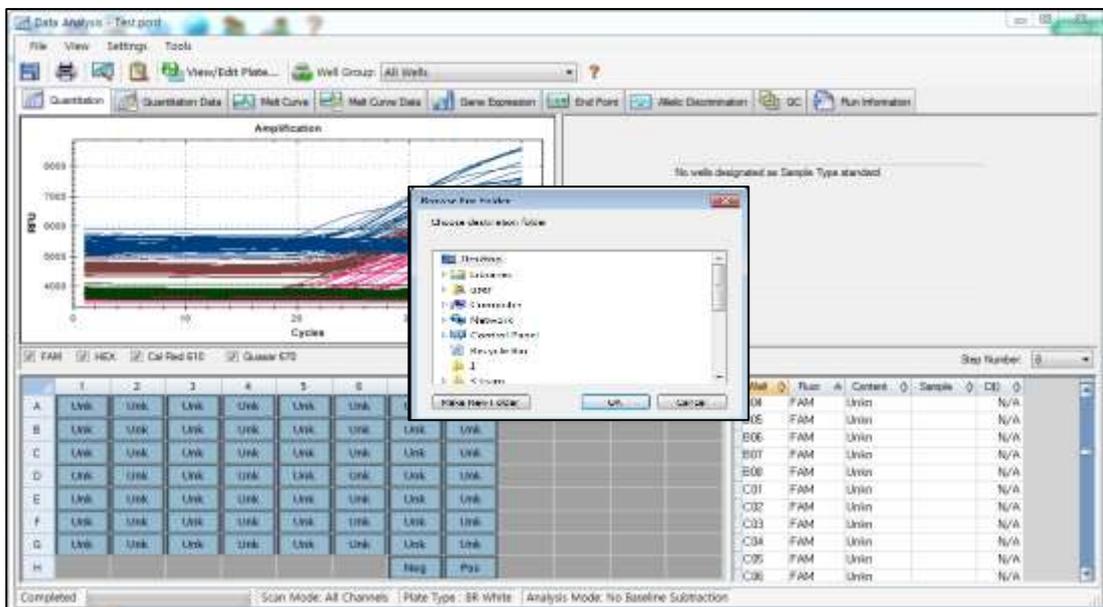


Fig. 12. **Seegene Export (Exportar Seegene) a la carpeta indicada**

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

- 1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option (Opciones)** para seleccionar **CFX96** en **Instrument (Instrumento)**.

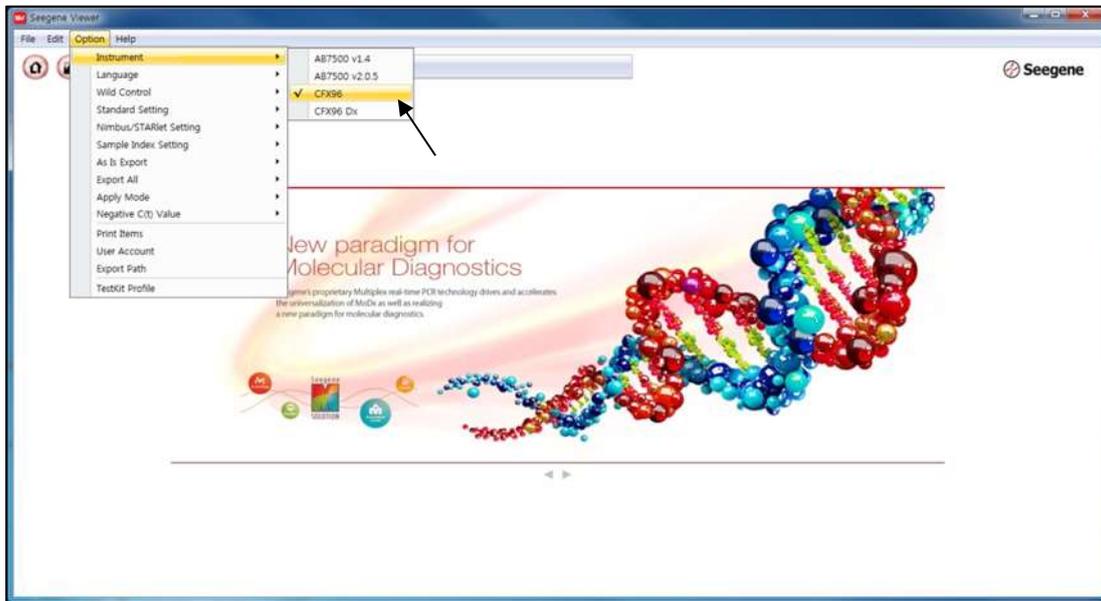


Fig. 13. Seegene Viewer

- 2) Haga clic en **Open (Abrir)** para explorar los archivos guardados en la carpeta “QuantStep8”, abra el archivo de los resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

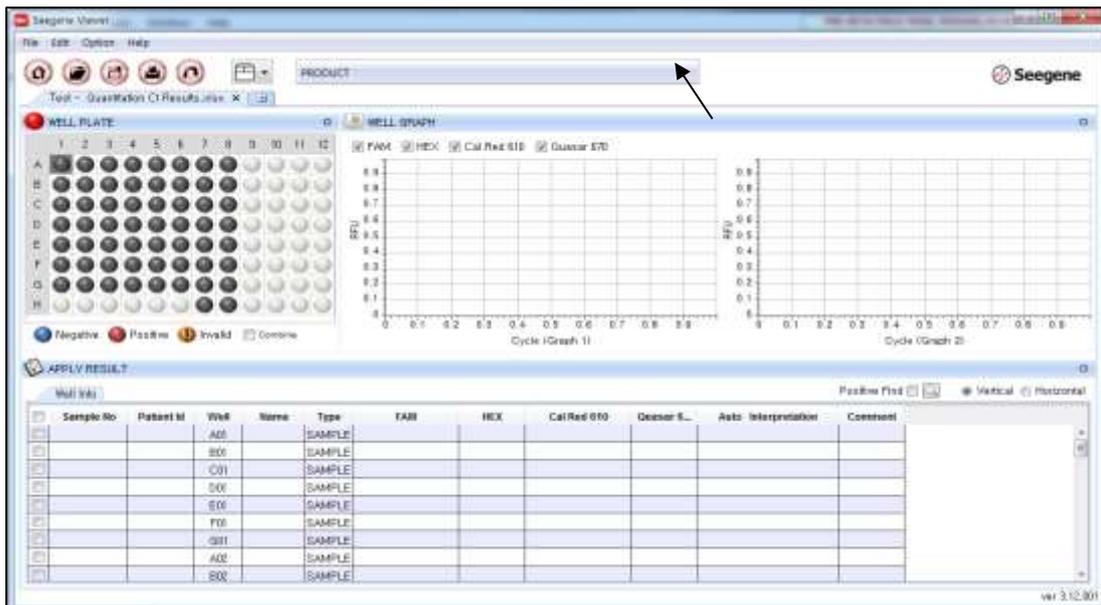


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

Nota: Verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit del test (8 strip / 96 cap / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

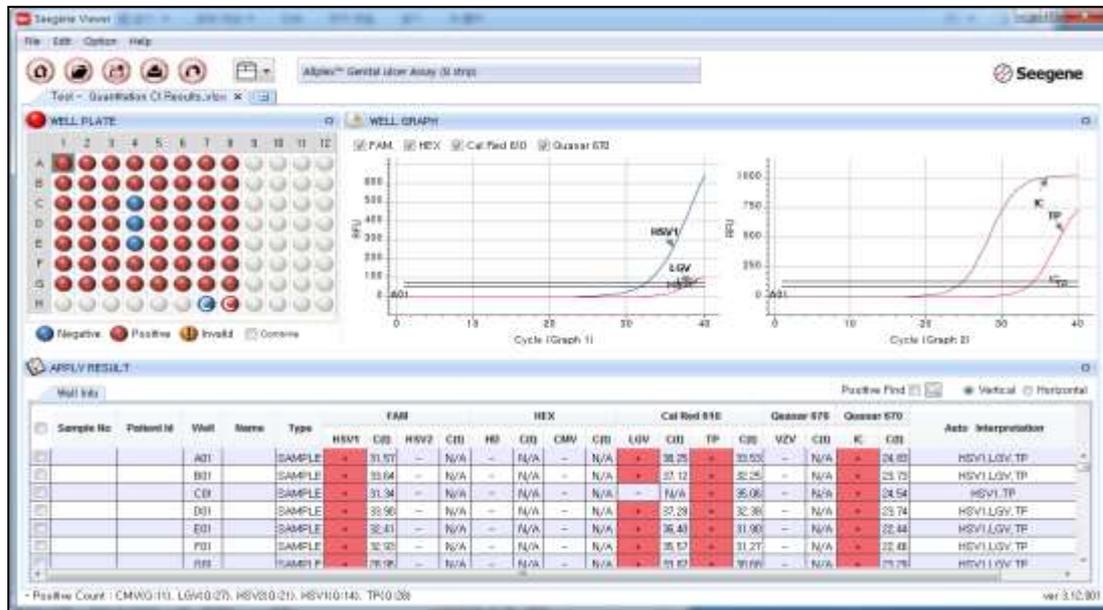


Fig. 15. Resultado del test en Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)

2.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: La configuración del experimento para el sistema CFX96™ Dx (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

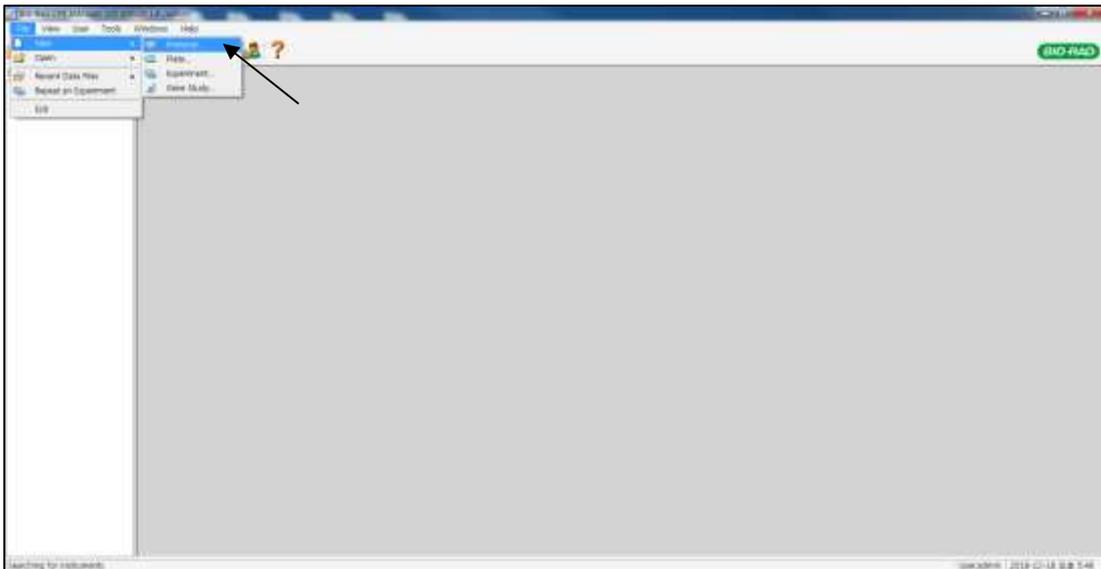


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

Paso	No. de ciclos	Temperatura	Duración
1	1	50°C	4 min
2		95°C	15 min
3	5	95°C	30 seg
4		60°C	1 min
5		72°C	30 seg
6	GOTO Paso 3, 4 veces más		
7	40	95°C	10 seg
8*		60°C	1 min
9*		72°C	10 seg
10	GOTO Paso 7, 39 veces más		

Nota*: Lectura de placa en el paso 8 y 9. La fluorescencia se detecta a 60°C y 72°C.

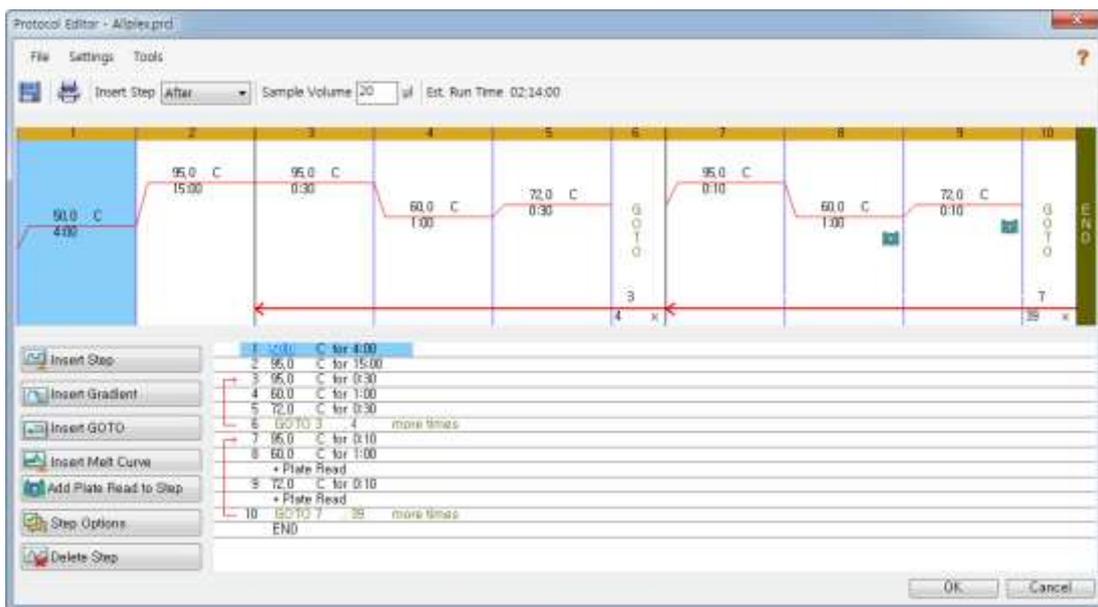


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**.

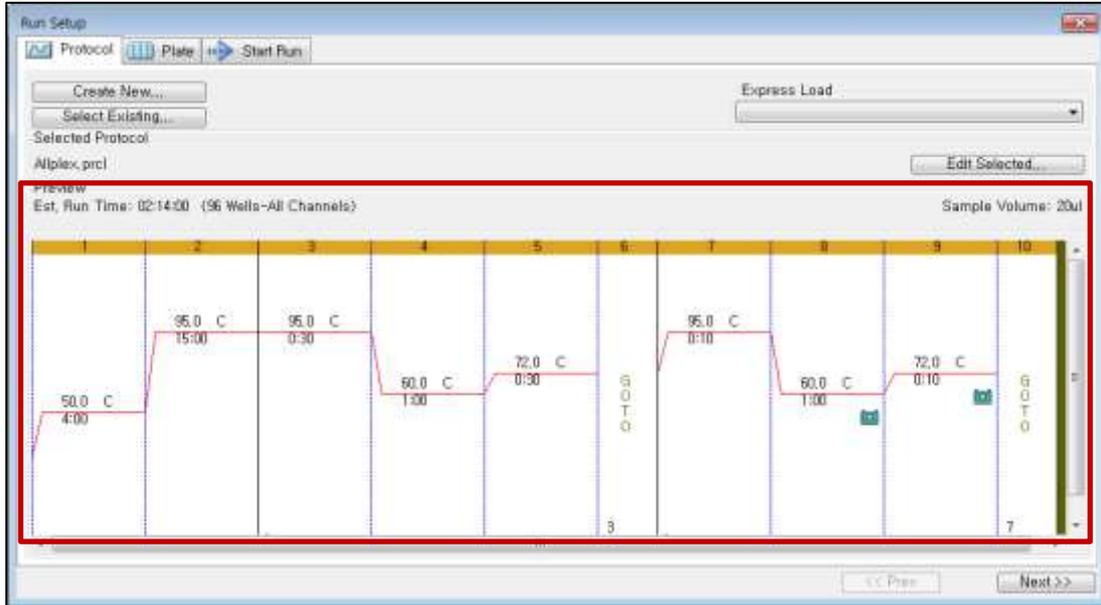


Fig. 3. Run Setup (Configuración del Ejecutar): Protocol (Protocolo)

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

- 1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

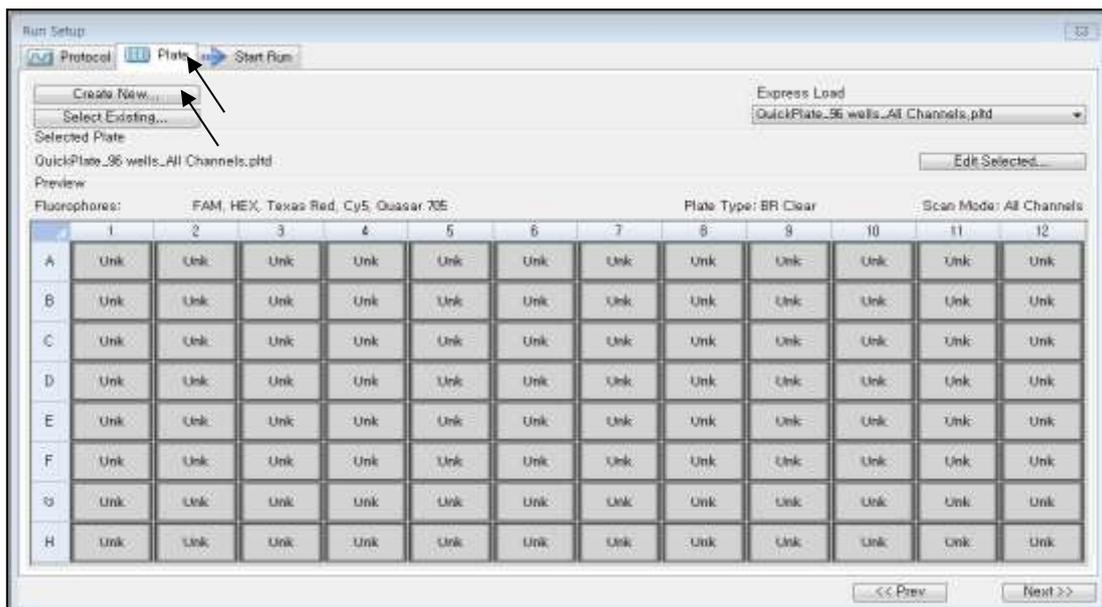


Fig. 4. Plate Editor (Editor de placa)

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

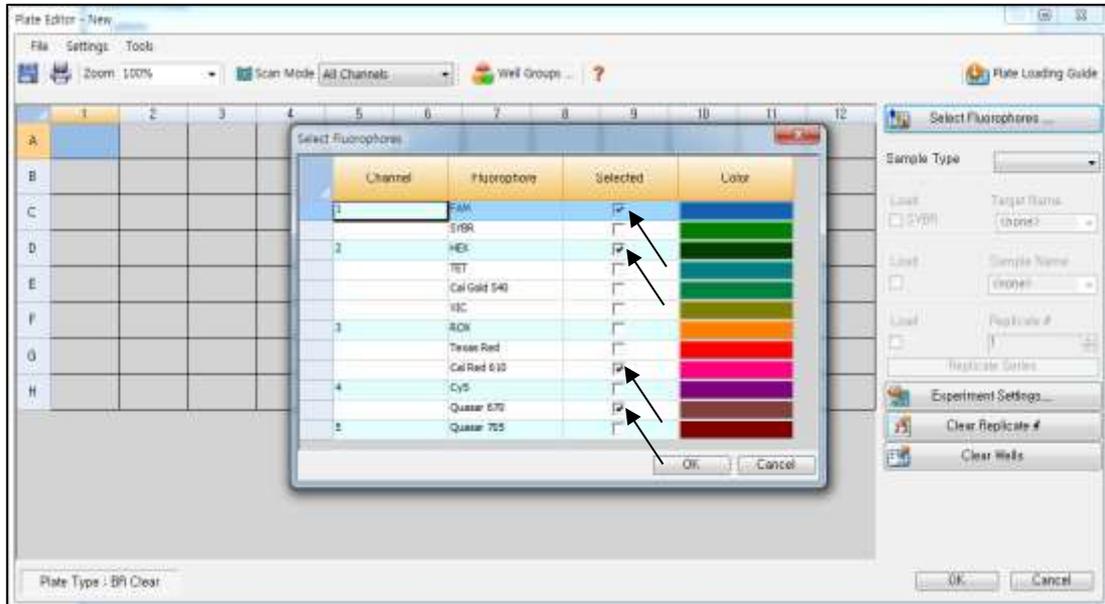


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (**FAM, HEX, Cal Red 610, y Quasar 670**)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type (Tipo de Muestra)**.

- **Unknown (Desconocidos)**: muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

4) Haga clic en las casillas de verificación adecuadas (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y presione la tecla Intro.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

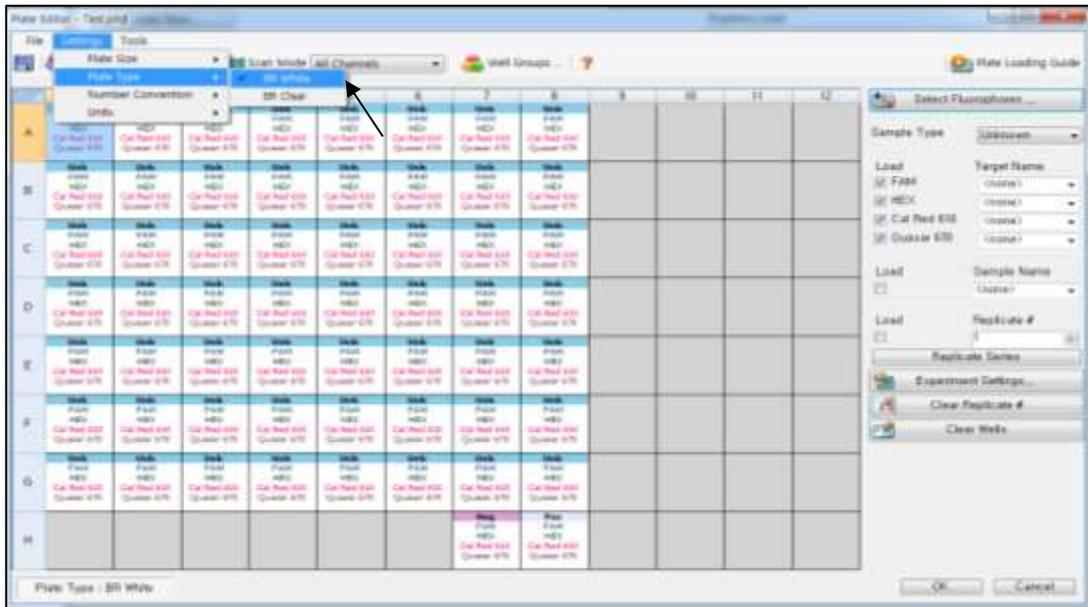


Fig. 6. **Plate Setup (Configuración de la placa)**

7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.

8) Regresará a la ventana **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**.

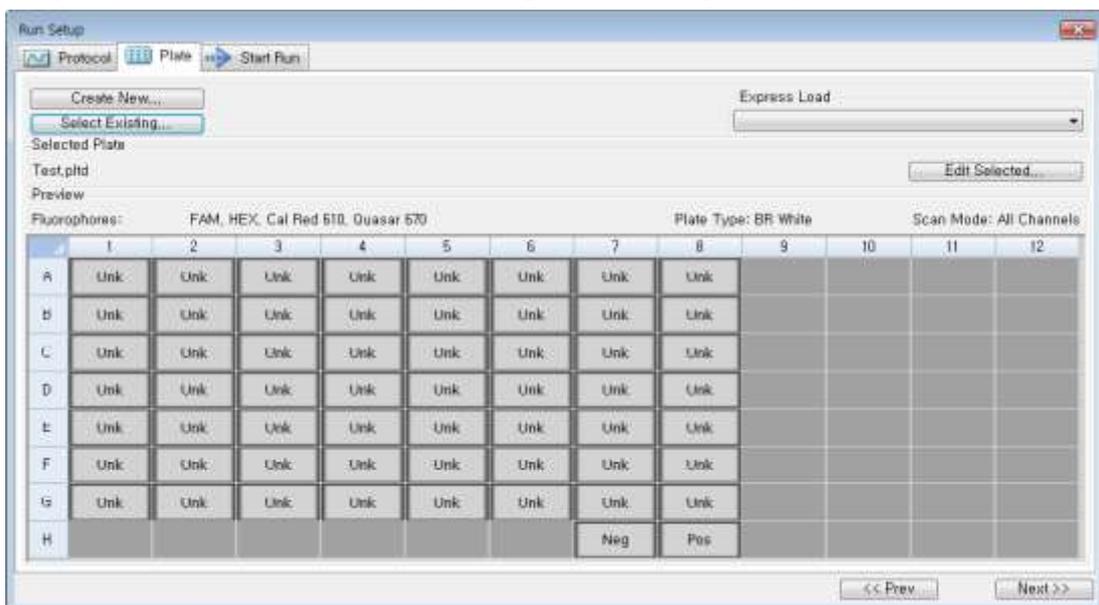


Fig. 7. **Run Setup (Configuración del Ejecutar): Plate (Placa)**

9) Haga clic en **Next (Siguiente)** para Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

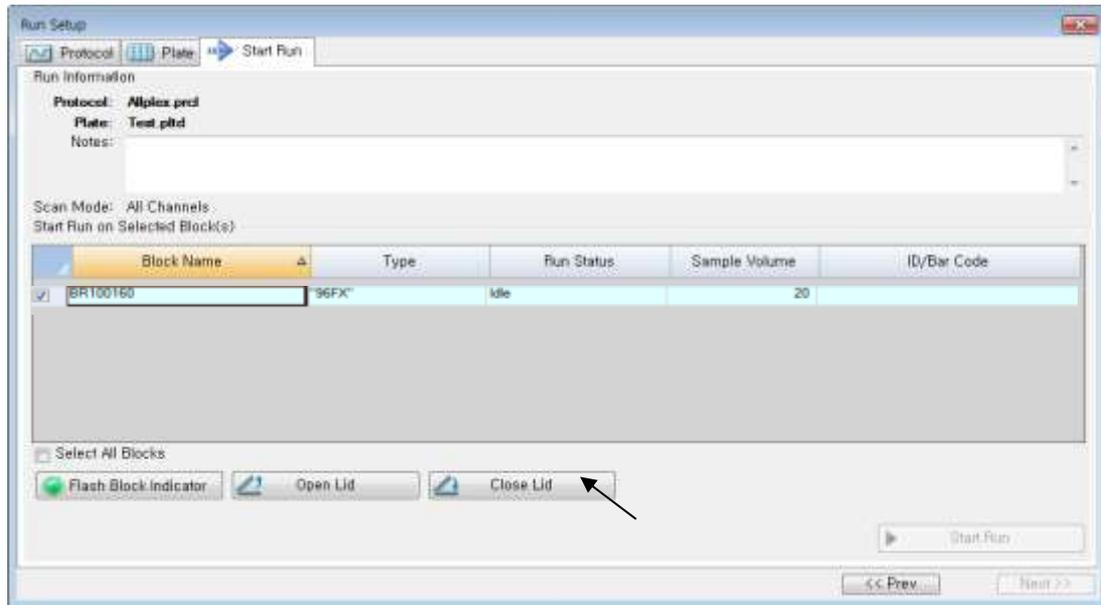


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.
3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

2.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Para guardar los datos de todos los pasos de detección de la curva de Melt a partir del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función "Seegene Export (Exportar Seegene)", se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep8" y "QuantStep9" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.R. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Configuración previa para el análisis Gestor de CFX Manager™

1) Después del test, haga clic en la pestaña Quantitation (Cuantificación) para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

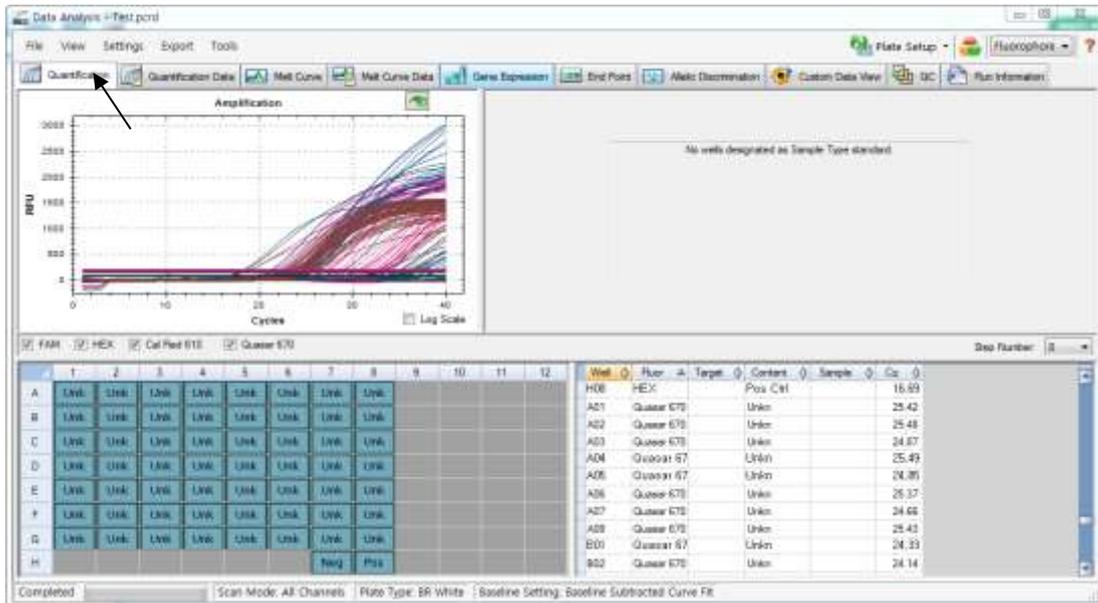


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el menú Settings (Configuración) de **Baseline Setting (Configuración de valor basal)**.

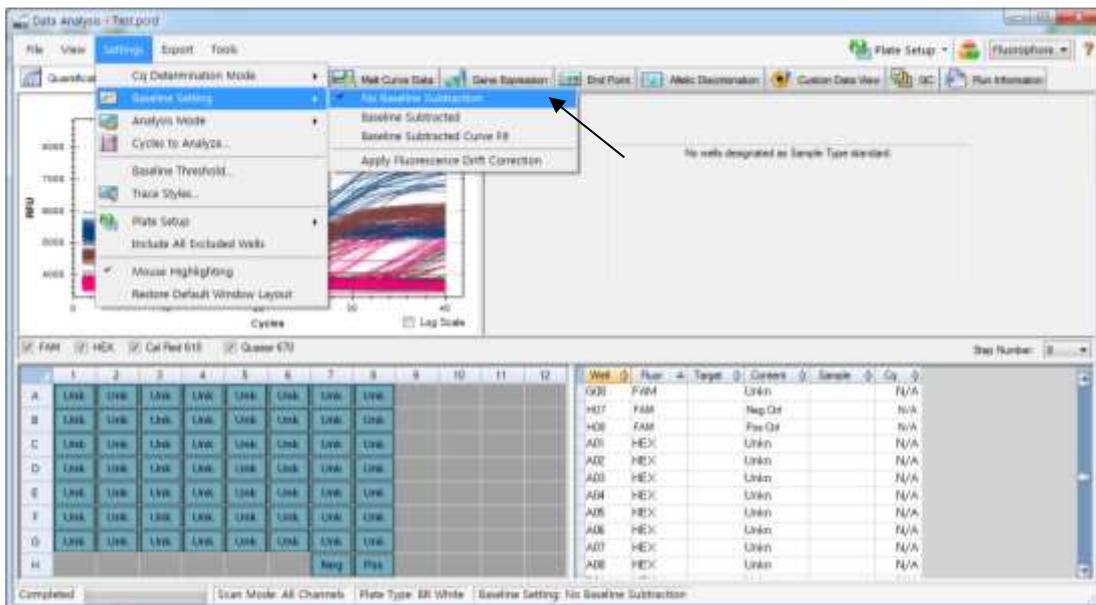


Fig. 10. No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)

3) Seleccione **Seegene Export (Exportar Seegene)** en el menú **Export (Exportación)**.

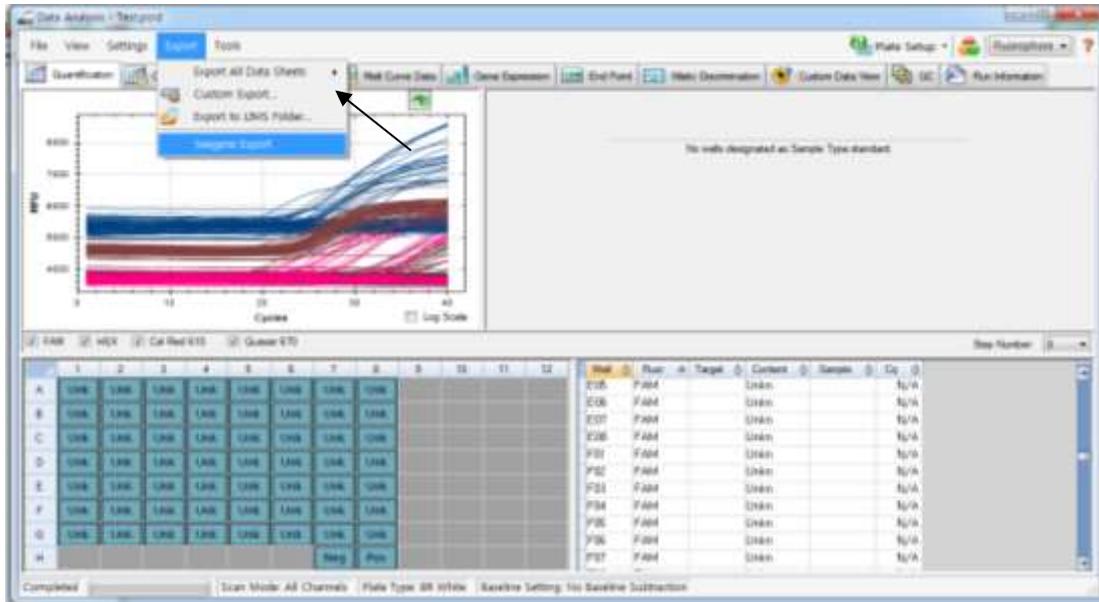


Fig. 11. **Seegene Export (Exportar Seegene)**

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

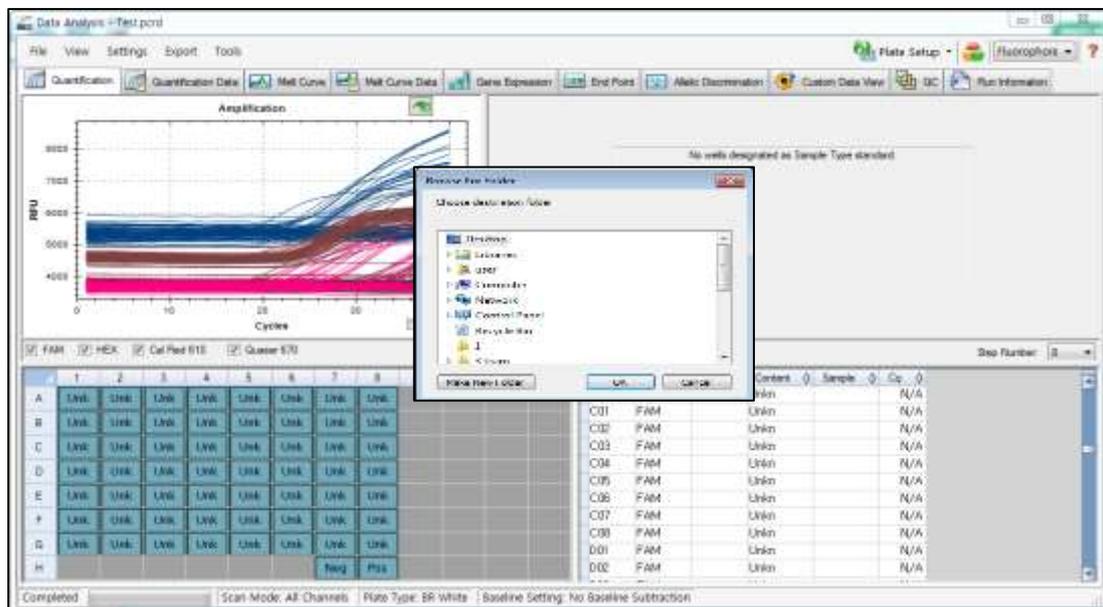


Fig. 12. **Seegene Export (Exportar Seegene) a la carpeta indicada**

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option (Opción)** para seleccionar **CFX96 Dx** en el **Instrument (Instrumento)**.

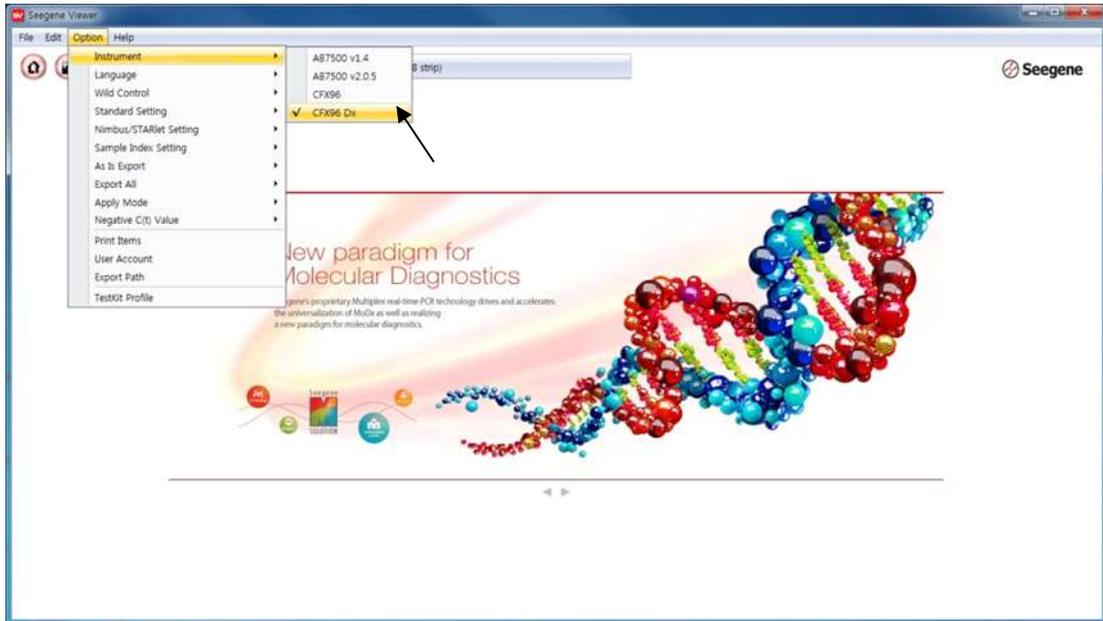


Fig. 13. Seegene Viewer

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para encontrar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep8", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

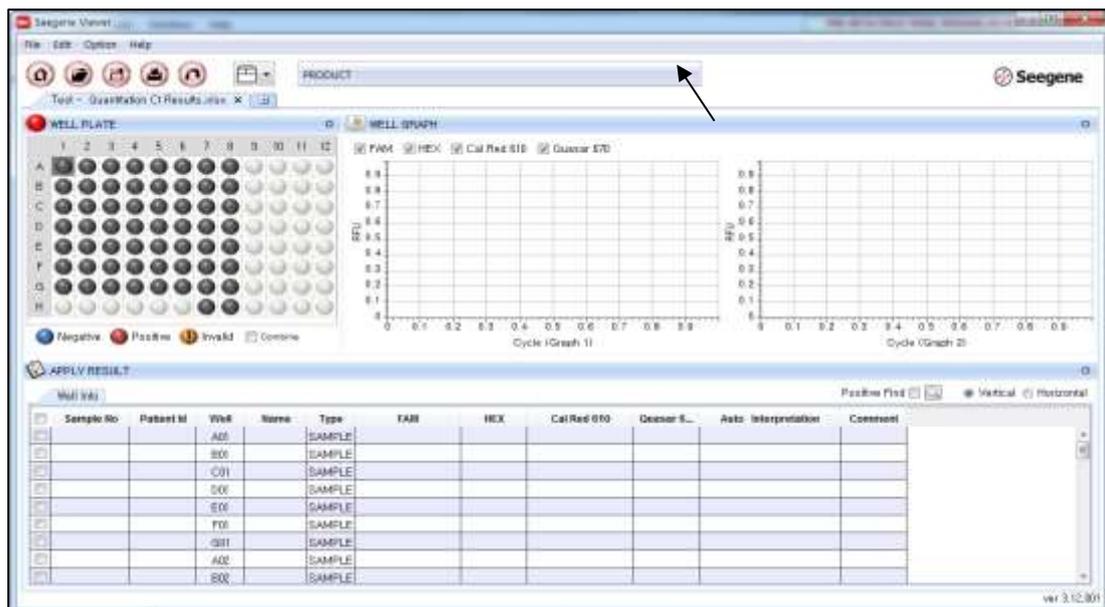


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

Nota: Verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit del test (8 strip / 96 cap / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

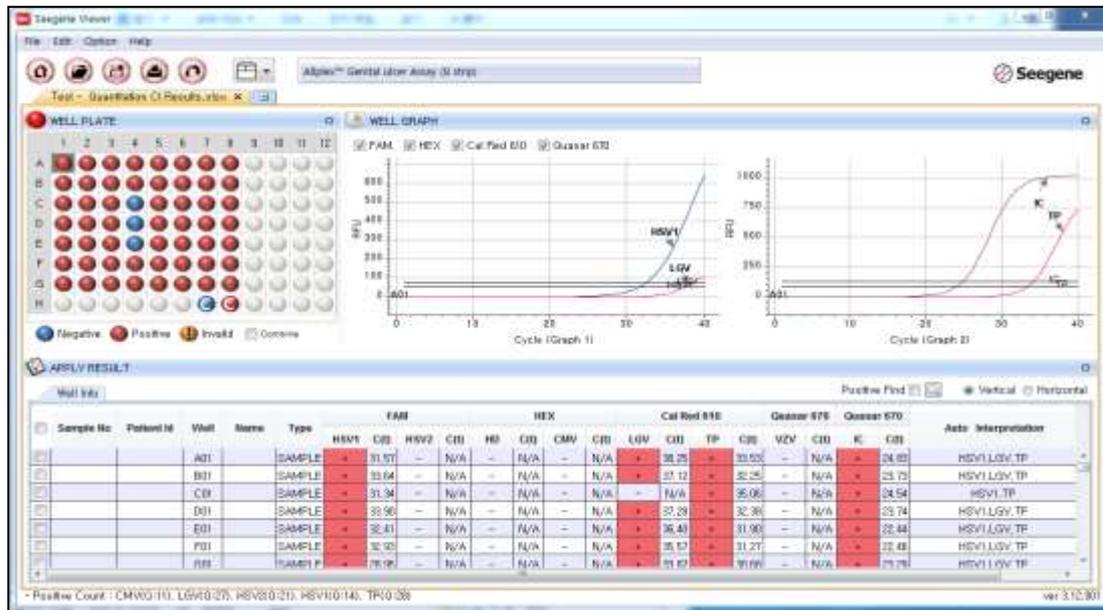


Fig. 15. Resultado del test en Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RESULTADOS
1. Información de los analitos

Fluoróforo	Analito	
	Gráfico 1	Gráfico 2
FAM	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	Herpes simplex virus 2 (HSV2)
HEX	<i>Haemophilus ducreyi</i> (HD)	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)
Cal Red 610	Lymphogranuloma venereum (LGV)	<i>Treponema pallidum</i> (TP)
Quasar 670	Varicella-zoster virus (VZV)	Control Interno (IC)

2. Interpretación de los resultados

Analito	Valor C _t	Resultado
Objetivos	≤ 40	Detectado (+)
	N/A	No detectado (-)
IC	≤ 40	Detectado (+)
	N/A	No detectado (-)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Resultado Objetivo		Resultado IC	Interpretación
Gráfico 1	Gráfico 2		
+	-	+	Ácido nucleico objetivo, Detectado
-	+		
+	+		
+	-	-	Ácido nucleico objetivo, Detectado* - Los objetivos GU adicionales que no se detectaron pueden estar presentes
-	+		
+	+		
-	-	+	Ácido nucleico objetivo, no detectado
-	-	-	No válido** - El hecho de que la señal de IC sea débil o negativa indica que la recogida de muestras o el proceso se realizaron de manera inadecuada, o hay presencia de inhibidores. - Repita el test desde la extracción de ácido nucleico usando otra parte alícuota de la muestra original. - Si se repite el mismo resultado al volver a extraer el ácido nucleico, diluya la muestra (1/3~1/10) en una solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.

* Para un resultado positivo de los patógenos objetivo, no se requiere la detección del Control Interno en el canal Quasar 670. Una carga elevada de otro analito puede conducir a una señal de Control Interno reducida o a su ausencia.

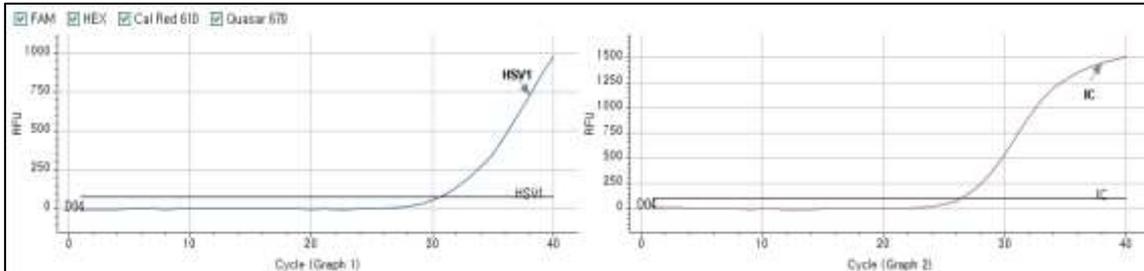
** Si no se observa ninguna de las señales que incluyan el Control Interno, véase SOLUCIÓN DE PROBLEMAS.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

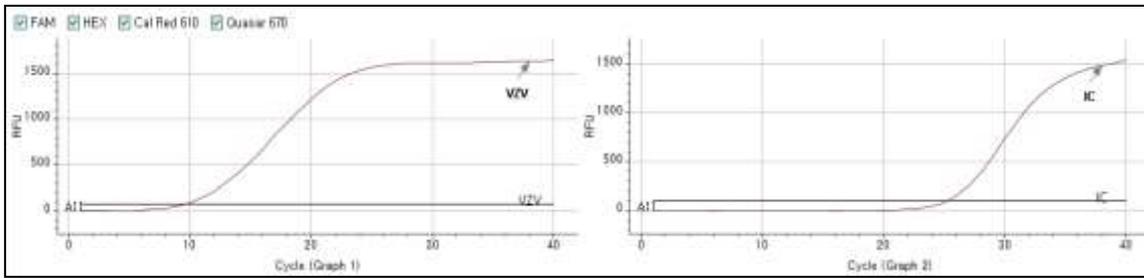
Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Aplicación a muestras clínicas

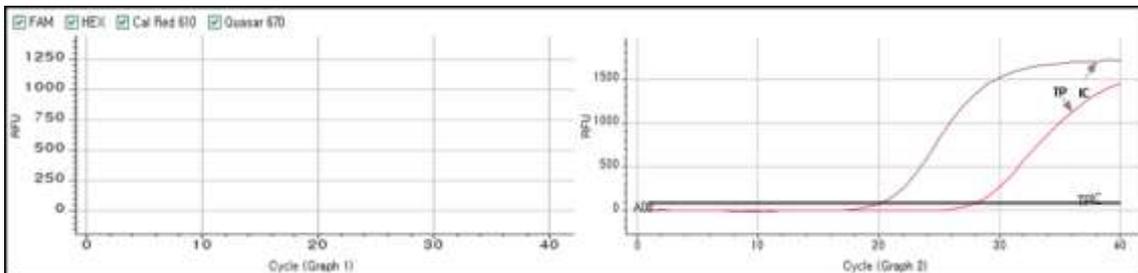
Muestra 1



Muestra 2



Muestra 3



Muestra	FAM				HEX				Cal Red 610				Quasar 670		Quasar 670		Interpretación Automática
	HSV1	C(t)	HSV2	C(t)	HD	C(t)	CMV	C(t)	LGV	C(t)	TP	C(t)	VZV	C(t)	IC	C(t)	
1	+	30,76	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	26,35	HSV1
2	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	9,47	+	25,33	VZV
3	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	27,61	-	N/A	+	20,33	TP

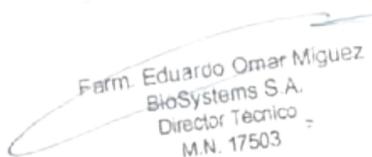
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

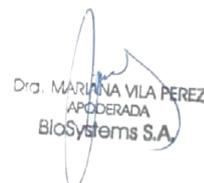
Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ Genital ulcer Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
No se observa señal	Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo.	Seleccione los fluoróforos adecuados para el análisis de datos.
	Configuración incorrecta del termociclador en tiempo real	Compruebe las condiciones del ciclo térmico y repita el test con la configuración adecuada.
	Almacenamiento incorrecto o posterior a la fecha de caducidad del kit del test.	Compruebe las condiciones de almacenamiento (véase página 11) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit del test y use un nuevo kit si fuese necesario.
	Fallo en la extracción de ácido nucleico	Si se añadió el IC a la muestra antes de la extracción, la ausencia de señal de IC puede indicar una pérdida de ácido nucleico durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado. Si es debido a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra original o puede diluir la muestra en una solución salina 1/3~1/10 y luego añadir ASTI IC a la muestra diluida. El ASTI IC solo debe utilizarse con muestras de orina.
No se observa señal de Control Interno	Alta carga de ácido nucleico del patógeno	Si se observa la señal del patógeno objetivo, pero no la del IC, entonces la amplificación del IC pudo haberse inhibido por una alta carga del patógeno objetivo.
	Presencia de inhibidor PCR	Diluya el ácido nucleico del modelo (1/10~1/100) en RNase-free Water y repita la prueba con el ácido nucleico diluido. Si la muestra todavía está presente, diluya la muestra (1/10~1/100) en una solución salina y repita el test con la muestra diluida.
Picos en los ciclos de la curva de amplificación	Burbujas en el tubo de PCR	Centrifugue el tubo de PCR antes del inicio.

Allplex™ Genital ulcer Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
Se observan supuestos falsos positivos o señales objetivo en el Control Negativo	Contaminación	Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Use solo puntas de filtro durante el procedimiento y cámbielas entre cada tubo. Repita el procedimiento entero desde la extracción de ácido nucleico con el nuevo conjunto de reactivos.
No se observan señales o supuestos falsos negativos en el Control Positivo	Error en la recogida de muestras	Compruebe el método de recogida de la muestra y vuelva a recogerla.
	Almacenamiento incorrecto de la muestra	Vuelva a recoger la muestra y repita el procedimiento entero. Asegúrese de que la muestra se almacena de la manera recomendada.
	Error en la extracción de ácido nucleico	Compruebe el procedimiento de extracción del ácido nucleico así como la concentración de ácido nucleico, y vuelva a extraerlo.
	Error al añadir ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes	Compruebe los números de muestra de los tubos que contienen el ácido nucleico y asegúrese de añadir ácido nucleico a los tubos de PCR adecuados. Repita cuidadosamente la prueba si fuese necesario.
	Presencia de inhibidor	Diluya el ácido nucleico del modelo (1/10~1/100) en RNase-free Water y repita la prueba con el ácido nucleico diluido. Si la muestra todavía está presente, dilúyala (1/10~1/100) en una solución salina y repita el test con la muestra diluida.
	Mezcla de PCR incorrecta	Confirme que todos los componentes se añadan a la mezcla de PCR (la sensibilidad puede verse afectada por las premezclas anteriormente realizadas). Deben homogeneizarse todos los reactivos y centrifugarse antes de usar.


 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

RENDIMIENTO
1. Especificidad

La alta especificidad de Allplex™ Genital ulcer Assay viene garantizada por los oligos diseñados específicamente para los objetivos de interés según las condiciones de reacción definidas. Allplex™ Genital ulcer Assay se probó para la reactividad cruzada de 122 patógenos diferentes, y la detección y amplificación de PCR solo se identificaron en los objetivos especificados.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm	Resultado†
1	<i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV I)*	ATCC	VR-901B	LGV Detectado
2	<i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV II)*	Advanced	08-931-000	LGV Detectado
3	<i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV III)*	ATCC	VR-903	LGV Detectado
4	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	ATCC	VR-807	CMV Detectado
5	<i>Haemophilus ducreyi</i>	ATCC	700724D-5	HD Detectado
6	Herpes simplex virus 1	ATCC	VR-260	HSV1 Detectado
7	Herpes simplex virus 2	ATCC	VR-734	HSV2 Detectado
8	<i>Treponema pallidum</i>	Vircell	MBC109	TP Detectado
9	Varicella-zoster virus	ATCC	VR-1367	VZV Detectado
10	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC	15308	No detectado
11	<i>Acinetobacter schindleri</i>	KCTC	12409	No detectado
12	<i>Acinetobacter ursingii</i>	KCTC	12410	No detectado
13	<i>Atopobium parvulum</i>	KCTC	3663	No detectado
14	<i>Atopobium vaginae</i>	ATCC	BAA-55	No detectado
15	<i>Bacteroides caccae</i>	KCTC	5132	No detectado
16	<i>Bacteroides fragilis</i>	KCTC	3688	No detectado
17	<i>Bacteroides ovatus</i>	KCTC	5827	No detectado
18	<i>Bacteroides vulgatus</i>	KCCM	11423	No detectado
19	<i>Bacteroides xylanisolvens</i>	KCTC	15192	No detectado
20	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	KCCM	11206	No detectado
21	<i>Bifidobacterium longum</i>	KCCM	11953	No detectado
22	<i>Bifidobacterium minimum</i>	KCTC	3273	No detectado
23	<i>Candida albicans</i>	ATCC	10231D-5	No detectado
24	<i>Candida dubliniensis</i>	KCTC	17427	No detectado
25	<i>Candida glabrata</i>	ATCC	36909D	No detectado

26	<i>Candida krusei</i>	KCCM	50633	No detectado
27	<i>Candida lusitanae</i>	KCCM	50541	No detectado
28	<i>Candida orthopsilosis</i>	ATCC	96139	No detectado
29	<i>Candida parapsilosis</i>	KCTC	7653	No detectado
30	<i>Candida tropicalis</i>	KCTC	7212	No detectado
31	<i>Candida metapsilosis</i>	ATCC	96144D	No detectado
32	<i>Chlamydia trachomatis</i>	ATCC	VR-1500	No detectado
33	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar A)	ATCC	VR-571B	No detectado
34	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar B)	ATCC	VR-573	No detectado
35	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar Ba)	ATCC	VR-347	No detectado
36	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar C)	ATCC	VR-1477	No detectado
37	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar D)	ATCC	VR-885	No detectado
38	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar E)	ATCC	VR-348B	No detectado
39	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar F)	ATCC	VR-346	No detectado
40	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar G)	ATCC	VR-878	No detectado
41	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar H)	ATCC	VR-879D	No detectado
42	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar I)	ATCC	VR-880	No detectado
43	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar J)	ATCC	VR-886	No detectado
44	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar K)	ATCC	VR-887	No detectado
45	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	ATCC	VR-1360	No detectado
46	<i>Chlamydophila psittaci</i>	ATCC	VR-125	No detectado
47	<i>Clostridium difficile</i> (Toxin A+ / B+)	ATCC	9689	No detectado
48	<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC	13124	No detectado
49	<i>Enterococcus avium</i>	ATCC	49603D	No detectado
50	Epstein Barr Virus	ATCC	VR-602	No detectado
51	<i>Escherichia coli</i>	ATCC	15489	No detectado
52	<i>Gardnerella vaginalis</i>	ATCC	49145D	No detectado
53	<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC	51907D	No detectado
54	Hepatitis A virus (HAV)	ATCC	VR-1402	No detectado
55	Hepatitis B virus (HBV)	NIBSC	10/264	No detectado
56	Hepatitis C virus (HCV)	NIBSC	06/102	No detectado
57	Human Papilloma Virus 16	ATCC	45113D	No detectado
58	Human Papilloma Virus 18	ATCC	45152D	No detectado
59	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	KCCM	32820	No detectado

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

60	<i>Lactobacillus amylovorus</i>	KCCM	40431	No detectado
61	<i>Lactobacillus brevis</i>	KCCM	40399	No detectado
62	<i>Lactobacillus casei</i>	KCCM	12452	No detectado
63	<i>Lactobacillus crispatus</i>	KCTC	5054	No detectado
64	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i>	KCCM	35468	No detectado
65	<i>Lactobacillus fermentum</i>	KCCM	40401	No detectado
66	<i>Lactobacillus fornicalis</i>	ATCC	700934	No detectado
67	<i>Lactobacillus gallinarum</i>	KCCM	40987	No detectado
68	<i>Lactobacillus gasseri</i>	KCTC	3163	No detectado
69	<i>Lactobacillus helveticus</i>	KCCM	41823	No detectado
70	<i>Lactobacillus iners</i>	ATCC	55195	No detectado
71	<i>Lactobacillus intestinalis</i>	KCCM	40990	No detectado
72	<i>Lactobacillus jensenii</i>	KCTC	5194	No detectado
73	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	KCCM	32825	No detectado
74	<i>Lactobacillus kefirifaciens</i>	KCCM	41275	No detectado
75	<i>Lactobacillus oris</i>	KCCM	40993	No detectado
76	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	KCTC	3503	No detectado
77	<i>Lactobacillus pentosus</i>	KCCM	40997	No detectado
78	<i>Lactobacillus plantarum</i>	KCCM	12116	No detectado
79	<i>Lactobacillus reuteri</i>	KCCM	40717	No detectado
80	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	KCCM	32405	No detectado
81	<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>Salicinius</i>	KCCM	40998	No detectado
82	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	ATCC	27651	No detectado
83	<i>Lactobacillus ultunensis</i>	KCTC	5857	No detectado
84	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	KCCM	49540	No detectado
85	<i>Mobiluncus curtisii</i>	ATCC	35241	No detectado
86	<i>Mobiluncus mulieris</i>	ATCC	35240D-5	No detectado
87	<i>Mycoplasma arginini</i>	ATCC	23838D	No detectado
88	<i>Mycoplasma felis</i> Cole et al.	ATCC	23391	No detectado
89	<i>Mycoplasma genitalium</i>	ATCC	33530D	No detectado
90	<i>Mycoplasma hominis</i>	ATCC	23114D	No detectado
91	<i>Mycoplasma iowae</i> Jordan et al.	ATCC	33552	No detectado
92	<i>Mycoplasma leonicaptivi</i> Hill	ATCC	49890	No detectado
93	<i>Mycoplasma pneumonia</i>	ATCC	29342	No detectado

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

94	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	ATCC	19612	No detectado
95	<i>Mycoplasma spumans</i>	ATCC	19526	No detectado
96	<i>Neisseria cinerea</i>	ATCC	14685	No detectado
97	<i>Neisseria flavescens</i>	ATCC	13120	No detectado
98	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	700825D	No detectado
99	<i>Neisseria lactamica</i>	ATCC	23970	No detectado
100	<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC	700532D	No detectado
101	<i>Neisseria mucosa</i>	ATCC	19696	No detectado
102	<i>Neisseria perflava</i>	ATCC	14799D-5	No detectado
103	<i>Neisseria sicca</i>	ATCC	5415	No detectado
104	<i>Neisseria subflava</i>	ATCC	49275	No detectado
105	<i>Prevotella bivia</i>	KCTC	5454	No detectado
106	<i>Prevotella buccalis</i>	KCTC	5496	No detectado
107	<i>Prevotella disiens</i>	KCTC	5499	No detectado
108	<i>Prevotella intermedia</i>	KCTC	3692	No detectado
109	<i>Prevotella melaninogenica</i>	KCTC	5457	No detectado
110	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	47085	No detectado
111	Putative BVAB2	Korean isolate		No detectado
112	Putative Megasphaera type-1	Korean isolate		No detectado
113	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	KCCM	50511	No detectado
114	<i>Salmonella enteritidis</i>	KCCM	12021	No detectado
115	<i>Salmonella typhimurium</i>	KCCM	40253	No detectado
116	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	700699D-5	No detectado
117	<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC	BAA-611D	No detectado
118	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC	BAA-255D	No detectado
119	<i>Trichomonas vaginalis</i>	ATCC	30001D	No detectado
120	<i>Ureaplasma parvum</i>	ATCC	27815	No detectado
121	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	ATCC	33695	No detectado
122	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC	27969	No detectado

* **LGV (Lymphogranuloma venereum, *Chlamydia trachomatis* serovar L)**

† Para demostrar la disponibilidad de los resultados, el experimento se repitió tres veces.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- ※ ATCC: American Type Culture Collection
- KCTC: Korean Collection for Type Culture
- KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
- NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control
- Vircell: Vircell microbiologists
- Advanced : Advanced Biotechnologies Inc.

2. Sensibilidad

Para determinar la sensibilidad de Allplex™ Genital ulcer Assay, se configuró una dilución en serie estándar de DNA clonado objetivo desde 10^4 a 10^0 copias/reacción y se analizó con Allplex™ Genital ulcer Assay. El límite de detección para el Allplex™ Genital ulcer Assay fue 100 copias/reacción.

3. Reproducibilidad

Los test de reproducibilidad se llevaron a cabo en 2 momentos distintos a lo largo de 5 días, con 3 investigadores diferentes, 3 lotes de productos diferentes y 3 sitios diferentes. Se obtuvieron los mismos resultados en cada test, lo que confirma la reproducibilidad del Allplex™ Genital ulcer Assay.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se llevó a cabo usando sustancias interferentes compuestas por 5 sustancias para confirmar el rendimiento de Allplex™ Genital ulcer Assay en la presencia de potenciales sustancias interferentes. El resultado no se vio afectado al añadir las sustancias: ni detección no específica ni inhibición en la amplificación objetiva. Teniendo en cuenta los resultados, las 5 sustancias interferentes no afectaron los resultados de Allplex™ Genital ulcer Assay.

Núm	Sustancias interferentes	Concentración
1	Human whole blood	0%, 2,5%, 5%
2	Albumin	0%, 2,5%, 5%
3	Bilirubin	0 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL
4	pH	pH4, pH7, pH9
5	Mucus	-

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

5. Estudio clínico

Un total de 100 especímenes clínicos fueron sometido a una prueba con Allplex™ Genital ulcer Assay y aun ensayo de referencia.

La tasa de concordancia del HSV-1, HSV-2, TP y CMV debería ser más de 90%. Esta prueba comparativa mostró una tasa de concordancia de 92,9% entre las muestras clínicas examinadas con Allplex™ Genital ulcer Assay y las de la prueba de referencia. De este modo queda confirmado que la calidad de Allplex™ Genital ulcer Assay es válida.

Analito	Sensibilidad (en comparación con el ensayo de referencia)			Especificidad (en comparación con el ensayo de referencia)			Precisión		
	TP/ (TP+FN)	% ^{a)}	95% CI ^{c)}	TN/ (TN+FP)	% ^{b)}	95% CI ^{c)}	(TP+TN)/ Total	% ^{d)}	95% CI ^{c)}
Herpes simplex virus type 1 (HSV-1)	2/2	100,0	15,8~100,0	69/69	100,0	94,8~100,0	71/71	100,0	94,9~100,0
Herpes simplex virus type 2 (HSV-2)	11/11	100,0	71,51~100,0	60/60	100,0	94,0~100,0	71/71	100,0	94,9~100,0
<i>Treponema pallidum</i> (TP)	-	-	-	71/71	100,0	94,94~100,0	71/71	100,0	94,9~100,0
<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	16/21	76,2	52,83~91,8	62/63	98,4	91,5~100,0	78/84	92,9	85,1~97,3

a) Sensibilidad: $100 \times TP / (TP + FN)$

b) Especificidad: $100 \times TN / (FP + TN)$

c) Se calcularon los intervalos de confianza del 95% a ambos lados.

d) Precisión: $100 \times (TP + TN) / (TP + TN + FP + FN)$

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REFERENCIAS

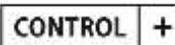
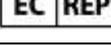
1. A. I. Gouveia, J. Borges-Costa, L. Soares-Almeida, M. Sacramento-Marques and H. Kutzner. [Herpes simplex virus and cytomegalovirus co-infection presenting as exuberant genital ulcer in a woman infected with human immunodeficiency virus] *Clin Exp Dermatol.* (2014) 39(8): 915-917
2. C Birch, J Druce, M Catton, L MacGregor, and T Read. [Detection of varicella zoster virus in genital specimens using a multiplex polymerase chain reaction] *Sex Transm Infect.* (2003) 79(4): 298–300
3. Christiane Maria Moreira Gomes, Paulo César Giraldo, Francis de Assis Moraes Gomes, Rose Amaral, Mauro Romero Leal Passos and Ana Katherine da Silveira Gonçalves. [Genital Ulcers in Women: Clinical, Microbiologic and Histopathologic Characteristics] *BJID.* (2007) 11(2): 254-260
4. Christopher J. McIver, Nikolas Rismanto, Catherine Smith, Zin Wai Naing, Ben Rayner, Josephine Lusk, Pamela Konecny, Peter A. White, William D. Rawlinson. [Multiplex PCR testing detected higher than expected rates of cervical Mycoplasmas, Ureaplasmas, Trichomonas and viral agents in sexually active Australian women.] *JCM.* (2009) 47(5): 1358-1363
5. D. H. Lee. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] *Seegene Bulletin* (2012) 1: 5-10
6. Gopalan V, Nair RG, Pillai S, Oberholzer T. [Genital herpes zoster as a consequence of cancer chemotherapy-induced immunosuppression: report of a case.] *J Infect Chemother* (2012) 18(6):955-957
7. JASON SCHOENFELD, SARAH CANNON, KRISTIN CAM, MATTHEW KELLER. [Cutaneous Co-infected Cytomegalovirus and Herpes Simplex Virus Perigenital Ulcers in Human Immunodeficiency Virus Patients] *J Clin Aesthet Dermatol.* (2013) 6(10): 41–43
8. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] *Seegene Bulletin.* (2012) 1: 1-4
9. KARINA A. and ORLE. [Simultaneous PCR Detection of Haemophilus ducreyi, Treponema pallidum, and Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 from Genital Ulcers.] *JCM.* (1996) 34(1): 49–54
10. Magnus Unemo, Ronald Ballard, Catherine Ison, David Lewis, Francis Ndowa, Rosanna Peeling. [Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus] *World Health Organization.* (2013)
11. Richard P. DiCarlo and David H. Martin. [The Clinical Diagnosis of Genital Ulcer Disease in Men] *CID.* (1997) 25:292–298
12. Sewell CA and Anderson JR. [Cytomegalovirus disease in the lower female genital tract.] *AIDS Patient Care STDS.* (2001) 15(9): 459-462
13. Y. J. Lee, D. Kim, K. Lee, and J. Y. Chun. [Single-channel multiplexing without melting curve analysis in real-time PCR] *Scientific Reports* (2014) 4:7439

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SÍMBOLOS

Clave sobre los símbolos que se han usado en el manual y las etiquetas

Símbolo	Explicación
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Código de lote
	Número de catálogo
	Utilizar por fecha
	Límite superior de temperatura
	Mezcla de oligonucleotidos para amplificación y detección
	PCR master mix o Detection Mix
	RNase-free Water
	Control Positivo (PC)
	Control Interno (IC)
	Consulte las instrucciones de uso
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Precaución
	Contiene suficiente para <n> test

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Símbolo	Explicación
	Identificador único del dispositivo
	Código de barras de reacción para sistema de extracción automatizada

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN DE PEDIDO

Núm. Cat.	Producto	Tamaño
Allplex™ series		
SD10177Z	Allplex™ Genital ulcer Assay	25 rxns*
SD9802Y	Allplex™ Genital ulcer Assay	50 rxns
SD9802X	Allplex™ Genital ulcer Assay	100 rxns*
SD9801Y	Allplex™ STI Essential Assay	50 rxns
SD9801X	Allplex™ STI Essential Assay	100 rxns*
SD10178Z	Allplex™ Candidiasis Assay	25 rxns*
SD9803Y	Allplex™ Candidiasis Assay	50 rxns
SD9803X	Allplex™ Candidiasis Assay	100 rxns*
SD9804X	Allplex™ Bacterial Vaginosis Assay	100 rxns
SD10159X	Allplex™ Bacterial Vaginosis <i>plus</i> Assay	100 rxns
SD9400Y	Allplex™ CT/NG/MG/TV Assay	50 rxns
SD9400X	Allplex™ CT/NG/MG/TV Assay	100 rxns*
SD10169Y	Allplex™ MG & AziR Assay	50 rxns
SD10170X	Allplex™ MG & AziR Assay	100 rxns*

* Para usar solo con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet.

Anyplex™ series

SD7700Y	Anyplex™ II STI-7 Detection (V1.1)	50 rxns
SD7700X	Anyplex™ II STI-7 Detection (V1.1)	100 rxns*
SD7500Y	Anyplex™ II STI-5 Detection	50 rxns
SD7500X	Anyplex™ II STI-5 Detection	100 rxns*
SD7701Y	Anyplex™ II STI-7e Detection	50 rxns
SD7701X	Anyplex™ II STI-7e Detection	100 rxns*
SD7200Y	Anyplex™ CT/NG Real-time Detection (V3.1)	50 rxns**

* Para usar solo con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet.

** En el caso de SmartCycler® II System, se reduce el número total de rxn (50 rxns → 40 rxns)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Seeplex® series

HS6200Y	Seeplex® HSV2 ACE Detection	50 rxns
SD6401Y	Seeplex® STD4D ACE Detection (V2.0)	50 rxns
SD6600Y	Seeplex® STD6 ACE Detection (V2.0)	50 rxns
SD6511Y	Seeplex® STI Master Panel 1 (V2.0)	50 rxns

Productos accesorios

SG1701	Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	50 preps
--------	--	----------

Sistemas de extracción automatizada

65415-02	Microlab NIMBUS IVD	EA
173000-075	Microlab STARlet IVD	EA
65415-03	Seegene NIMBUS	EA
67930-03	Seegene STARlet	EA
744300.4.UC384	STARMag 96 X 4 Universal Cartridge kit	384T / 1box
SGprep32-180701	SGprep32	EA
EX00003P	STARMag 96 UniPlate	96T / 1box
EX00004T	STARMag 96 UniTube	96T / 1box
SG71100	SEEPREP32	EA
EX00009P	STARMag 96 ProPrep (Plate Type)	96T / 1box
EX00009T	STARMag 96 ProPrep (Tube Type)	96T / 1box

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

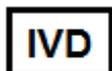
Genital ulcer Assay

(Núm. Cat. SD9802Y)

Sistema PCR multiplex en tiempo real para la detección de Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), *Haemophilus ducreyi* (HD), *Cytomegalovirus* (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV, *Chlamydia trachomatis* Serovar L), *Treponema pallidum* (TP), y Varicella-zoster virus (VZV) a partir de muestras de orina, hisopo genital y citología en medio líquido.

Para usar con

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)



Solo para diagnóstico *in vitro*



Seegene Inc.,

Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul, República de Corea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Alemania

No está disponible en Estados Unidos

Farm. Eduardo Omar Anguilar
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ÍNDICE

AVISOS	3
USO PREVISTO	4
PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS	5
INFORMACIÓN GENERAL	7
REACTIVOS	9
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN	10
MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS	10
PROTOCOLO	11
CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	18
RESULTADOS	38
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	41
RENDIMIENTO	43
REFERENCIAS	49
SÍMBOLOS	50
INFORMACIÓN DE PEDIDO	51

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

AVISOS

- Solo para diagnóstico *in vitro*.
- La fiabilidad de los resultados depende de que las muestras sean adecuadamente recogidas, almacenadas, transportadas y procesadas.
- **Este test se ha validado para los siguientes tipos de muestras: muestra de orina, hisopo genital y citología en medio líquido.** Este test no ha sido aprobado para ningún otro tipo de muestra.
- **Almacene las muestras de DNA a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ hasta que se vayan a usar y consérvelas en baño de hielo durante su uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede disminuir si las muestras se congelan y descongelan repetidas veces o si se almacenan durante mucho tiempo.
- El flujo de trabajo en el laboratorio debería desarrollarse de manera unidireccional.
- Deben llevarse siempre guantes desechables en cada zona y cambiarlos antes de entrar en las diferentes zonas. En caso de que se contaminen, se deben cambiar inmediatamente o tratar con un reactivo descontaminante de DNA.
- Destine materiales y equipamiento a estaciones de trabajo separadas y no los mueva de una zona a otra.
- No se debe pipetear con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las zonas de trabajo del laboratorio. Al manipular las muestras y reactivos, han de llevarse guantes sin talco desechables, bata de laboratorio y protección en los ojos. Deben lavarse bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del test.
- Evite contaminar los reactivos al quitar las partes alícuotas de los tubos de reactivos. Se recomienda usar puntas de pipeta desechables estériles, resistentes a los aerosoles.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
- No use el producto después de su fecha de caducidad.
- No reúse los elementos desechables.
- Use tubos con tapa de rosca y evite cualquier posible salpicadura o contaminación cruzada de las muestras durante la preparación.
- Por favor, tenga cuidado de no contaminar los reactivos con ácidos nucleicos extraídos, productos de PCR y control positivo. Para evitar la contaminación de los reactivos, se recomienda utilizar puntas con filtro.
- Use zonas de trabajo separadas para cada experimento.
- Para evitar la contaminación de áreas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos de reacción o cintas PCR solamente en las áreas de trabajo asignadas, después de

la amplificación.

- Los materiales positivos se han de almacenar separados de los reactivos del kit.
- Deben adoptarse los procedimientos de seguridad de laboratorio (consulte los documentos de Bioseguridad en los laboratorios microbiológicos y biomédicos y CLSI) al manipular las muestras. Limpie y desinfecte exhaustivamente todas las superficies de trabajo con hipoclorito de sodio al 0,5% (agua desionizada o destilada). Los componentes del producto (sus residuos, envoltorio) pueden considerarse residuos de laboratorio. Deseche los reactivos sin utilizar y los residuos conforme a las normativas nacionales, regionales y locales de aplicación.
- La fecha de caducidad es de 12 meses desde la fecha de fabricación, a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Por favor, consulte la etiqueta para comprobar la fecha de caducidad.
- El nombre de la marca “CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD” pasó a ser “CFX96™ Dx System”. Ya que no se hicieron cambios al hardware del sistema, se espera que se obtengan los mismos resultados con ambos sistemas.
- El “CFX Manager™ Dx Software v3.1” es la versión actualizada del “CFX Manager™ Software-IVD v1.6”. El software actualizado incluye mejoras al menú “Run” (Ejecutar). Estas mejoras no afectan los resultados del análisis de datos; por lo que los resultados serán los mismos.
- Este kit está destinado a asistir en el diagnóstico diferencial de las infecciones por patógenos objetivo;
Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), *H. ducreyi* (HD), *Cytomegalovirus* (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV, *C. trachomatis* Serovar L), *T. pallidum* (TP), y Varicella-zoster virus (VZV)

USO PREVISTO

Allplex™ Genital ulcer Assay es una prueba *in vitro* cualitativa para la detección única o múltiple de Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), *H. ducreyi* (HD), *Cytomegalovirus* (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV, *C. trachomatis* Serovar L), *T. pallidum* (TP), y Varicella-zoster virus (VZV) a partir de muestras de orina, hisopo genital y citología en medio líquido.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS

1. Principios

Allplex™ Genital ulcer Assay presenta tecnología MuDT™ propiedad de Seegene, que permite proporcionar valores multi-Ct (ciclo umbral) en un único canal de fluorescencia sin análisis de curva de Melting por PCR en tiempo real.

Allplex™ Genital ulcer Assay es un ensayo PCR en tiempo real que permite la amplificación y detección simultánea del Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), *H. ducreyi* (HD), *Cytomegalovirus* (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV), *T. pallidum* (TP), virus varicella-zoster (VZV) y Control Interno (IC).

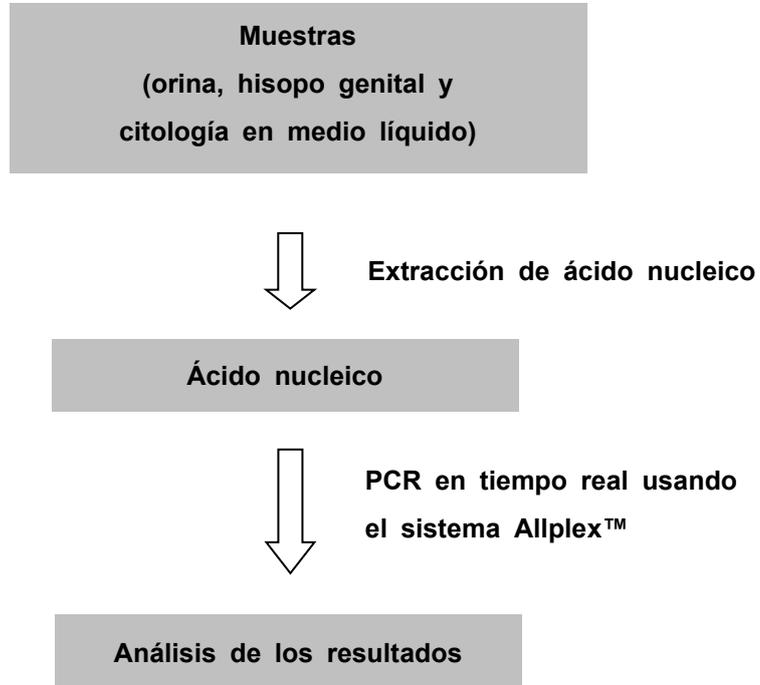
En Allplex™ Genital ulcer Assay, se utiliza un gen humano endógeno como Control Interno (IC) para supervisar todo el proceso desde la recogida de muestras hasta la extracción de ácido nucleico, así como para constatar cualquier posible inhibición de la PCR. La eficiencia de la PCR se puede reducir mediante inhibidores que pueden estar presentes en las muestras clínicas. Sin embargo, debido a los desajustes en la cantidad de células humanas de la orina, el IC se añade de forma exógena solo a las muestras de orina y se usa como un control exógeno de todo el proceso. El IC es coamplificado con ácidos nucleicos objetivo dentro de la muestra clínica.

Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, en Allplex™ Genital ulcer Assay se utiliza un sistema de Uracil-DNA glicosilasa (UDG). La función natural de la UDG es prevenir la mutagénesis eliminando el uracilo de las moléculas de DNA por escisión del enlace N-glucosídico e iniciar el mecanismo de reparación por escisión de bases (BER). Por lo tanto, los sistemas de UDG se utilizan para controlar la contaminación cruzada de las muestras con amplicones.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Información sobre el procedimiento



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN GENERAL

Las úlceras genitales tienen un amplio diagnóstico diferencial, y pueden surgir a raíz de causas infecciosas y no infecciosas. Las causas infecciosas incluyen virus del herpes simple (HSV), sífilis (*Treponema pallidum*), chancroide (*Haemophilus ducreyi*), granuloma inguinal (donovanosis), linfogranuloma venereo (*Chlamydia trachomatis* serotipos L1, L2, L3), hongos (por ejemplo, *Candida*) e infecciones bacterianas secundarias.

Con frecuencia, un diagnóstico basado solo en el historial médico del paciente y en una exploración física es impreciso. Por lo tanto, todos los pacientes que tengan úlceras genitales, anales o perianales deberán examinarse con un test serológico para detectar sífilis y una evaluación de diagnóstico para detectar herpes genital. En los contextos en los que el chancroide es frecuente, deberá también llevarse a cabo un test para detectar *Haemophilus ducreyi*.

1. Herpes simplex virus (HSV)

Los Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) y type 2 (HSV-2) son virus DNA bicatenarios grandes. El HSV-1 y HSV-2 comparten una estructura genómica similar, con un 40 % de homologías de secuencias y un 83% de homología de sus regiones codificantes de proteínas.

El herpes genital es una infección viral de por vida crónica. Se ha identificado que hay dos tipos de HSV que causan herpes genital: HSV-1 y HSV-2. La mayoría de las personas infectadas con HSV-2 no han sido diagnosticadas de herpes genital. Muchas de ellas tienen infecciones leves o no reconocidas, pero transmiten intermitentemente el virus en el tracto genital. Como resultado, la mayoría de las infecciones de herpes genitales las transmiten las personas que no son conscientes de que la tienen o que son asintomáticas cuando tiene lugar la transmisión.

2. Sífilis

La sífilis es una enfermedad sistémica causada por *Treponema pallidum* (TP). La sífilis es una enfermedad crónica transmitida sexualmente que se caracteriza por manifestaciones intensas y largos periodos de quiescencia. La sífilis venérea se transmite como resultado de contacto sexual con una lesión infecciosa de las membranas mucosas o eritema vulvar, o por vía transplacentaria de una mujer embarazada a su feto. En los hombres, la lesión se encuentra normalmente en el sulcus coronario, en la glándula o en el cuerpo del pene, y en las mujeres, se encuentra en la vulva, las paredes vaginales o el cuello del útero.

3. Lymphogranuloma venereum (LGV)

El Lymphogranuloma venereum (LGV) viene causado por *Chlamydia trachomatis* serovars L1,

L2 o L3. LGV es una infección sistémica invasiva y, si no se trata temprano, LGV proctocolitis puede llevar a estenosis y fístulas colorrectales crónicas. La manifestación clínica más común de LGV entre los heterosexuales es la linfadenopatía femoral o inguinal, que normalmente es unilateral. Entre las mujeres, pueden participar las glándulas perirrectales y pélvicas profundas si la lesión primaria se encuentran en el cuello del útero, y el paciente puede presentar síntomas compatibles con la enfermedad inflamatoria pélvica (PID, sus siglas en inglés) grave.

4. Chancroide

El chancroide está causado por *Haemophilus ducreyi* (HD) y la enfermedad se transmite exclusivamente por el contacto sexual, con una invasión directa del organismo a través de la piel saludable o descamada. El chancroide produce úlceras en los genitales, normalmente en el sulcus coronario del pene en los hombres y en la vulva en las mujeres. La úlcera es dolorosa, irregular y con bordes indeterminados, y normalmente no es indurada. Estas son las características clásicas que diferencian el chancroide de las úlceras sifilíticas. El chancroide, así como los herpes genitales y la sífilis, es un factor de riesgo en la transmisión de la infección del VIH.

5. Varicella zoster virus (VZV)

El herpes zoster (HZ) es una manifestación clínica de la reactivación del Varicella-zoster virus (VZV). El HZ de la zona genital masculina es una condición pocas veces notificada. Se han descrito casos individuales de infección anogenital y vulvar reconocida con VZV en adultos, asimismo también se han notificado casos de infección genital con este agente en niños. El VZV puede ser una causa de las infecciones genitales virales que ha recibido escasa atención, especialmente en pacientes de 16 a 50 años de edad.

6. Cytomegalovirus (CMV)

El *Cytomegalovirus* (CMV) puede causar enfermedad mortal en pacientes inmunodeprimidos, como aquellos con el virus de la inmunodeficiencia (VIH). Es una causa escasa pero importante de ulceración en el trato genital femenino.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 50 reacciones.

Información de pedido (**REF** SD9802Y)

Allplex™ Genital ulcer Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	4X GU MOM	250 µL	Mezcla de oligos de MuDT (MOM): - Reactivos de amplificación y detección
PREMIX	EM1	250 µL	- Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs
CONTROL +	GU PC	25 µL	Control Positivo (PC) - Mezcla de patógenos y clones
CONTROL IC	ASTI IC	500 µL	Control Interno (IC) para la muestra de orina
WATER	RNase-free Water	1.000 µL	Calidad ultrapura, grado PCR
	Manual de usuario		

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ Genital ulcer Assay deben almacenarse a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Este producto se puede usar durante 30 días después de la apertura inicial del kit y el rendimiento no se ve afectado por hasta 5 ciclos de congelación y descongelación. Si se van a utilizar los reactivos solo de forma intermitente, deben almacenarse en partes alícuotas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

- Guantes desechables sin talco (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubos de microcentrifugación de 1,5 mL
- Kit de extracción de ácido nucleico (consulte Extracción de ácido nucleico)
- Productor de hielo
- Centrifugadora de sobremesa
- Centrífuga de microplaca
- Mezclador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- Tiras de 8 tubos de perfil bajo de 0,2 mL sin tapas (color blanco, Núm. Cat. TLS0851, Bio-Rad)
- Tiras de 8 tapas planas ópticas (Núm. Cat. TCS0803, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco (Núm. Cat. HSP9655, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco, código de barras (Núm. Cat. HSP9955, Bio-Rad)
- Sello de calor permanente y transparente (Núm. Cat. 1814035, Bio-Rad)*
- PX1 PCR Sellador de placas (sellador automático, Núm. Cat. 181-4000, Bio-Rad)*
- Solución salina
- Mesa de trabajo limpia

* Asegúrese de usar el sello térmico y el sellador de placas listados arriba juntos.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PROTOCOLO**1. Recogida de muestras, almacenamiento y transporte**

Nota: Todas las muestras se deben tratar como material potencialmente infeccioso. Solo se permiten los materiales de las muestras que se recojan, almacenen y transporten de acuerdo con las siguientes normas e instrucciones de forma rigurosa.

Muestra de orina**Muestra de hisopo genital****Muestra de citología en medio líquido**

Nota: Para garantizar la alta calidad de las muestras, estas se han de transportar lo más rápido posible, y según las condiciones de temperatura indicadas.

A. Recogida de muestras**Muestra de orina**

- Se debe advertir al paciente de que no orine durante al menos dos horas antes de recoger la muestra.
- Recoja 10~30 mL de la primera orina en un recipiente limpio de polipropileno. Cierre y etiquete el recipiente de la muestra. Siga estrictamente las instrucciones para el almacenamiento y transporte.

Muestra de hisopo genital

Para recoger los hisopos genitales, use los siguiente materiales:

- Los hisopos genitales se pueden recoger y transportar en 1~3 mL de los siguientes medios:
 - ENAT PM 2ML REGULAR APPLICATOR
(APLICADOR PARA VÍA NASAL ENAT PM 2ML) (Copan)
 - UTM with Flocked Swabs (UTM con hisopos flocados) (Copan)
 - Swab Specimen Collection Kit (Kit para recoger muestras de hisopos) (Qiagen Corporation)
- Deje el hisopo en el medio de transporte. Cierre y etiquete el recipiente de la muestra. Siga estrictamente las instrucciones para el almacenamiento y transporte.
- Siga un protocolo recomendado para recoger las células de epitelio escamoso y columnar después de retirar la mucosa cervical.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Muestra de citología en medio líquido

- Use el medio citológico en medio líquido ThinPrep® de HOLOGIC® Inc. y SurePath™ de BD.
- Siga las instrucciones del fabricante para recoger las muestras de células cervicales en los medios ThinPrep® y SurePath™.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

Muestras	Almacenamiento y transporte		Nota
	Temp.	Duración*	
Muestra de orina	2~8°C	1 semana	- El rendimiento puede verse afectado por el almacenamiento a largo plazo de la muestra. - Las muestras también deben adherirse a las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno.
Muestra de hisopo genital	2~8°C	1 semana	
Medio ThinPrep®	2~8°C	6 semanas	
Medio SurePath™	2~8°C	2 semanas	

* Duración: Tiempo desde la recogida de muestras hasta la realización del test, incluyendo el almacenamiento y el transporte de las muestras antes de la realización del test.

2. Extracción de ácido nucleico
A. Tratamiento previo de las muestras

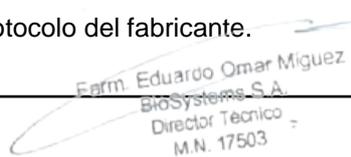
Nota: El proceso del tratamiento previo para extraer el ácido nucleico es el mismo para los kits manuales y el sistema de extracción automatizado (NucliSENS® easyMAG®, SGprep32 y SEEPREP32).

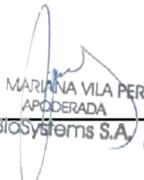
Muestras de hisopos genitales

- Las muestras de hisopos genitales se usan sin tratamiento previo.

Muestras de orina

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19~25°C).
- Centrifugue 1 mL de orina durante 15 minutos a 15.000 x g (13.000 rpm).
- Debe desecharse el sobrenadante. A continuación, hay que suspender de nuevo el sedimento en el volumen recomendado de solución salina (véase volumen recomendado de 2.C, D) agitándolo bien en un mezclador de vórtice.
- Siga el protocolo del fabricante.


 Firm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

Muestras de citología cervical en medio líquido

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19~25°C).
- Centrifugue 1 mL de muestra de citología cervical en medio líquido durante 15 minutos a 15.000 x g (13.000 rpm).
- Debe desecharse el sobrenadante. A continuación, hay que suspender de nuevo el sedimento en el volumen recomendado de solución salina (véase volumen recomendado de 2.C, D) agitándolo bien en un mezclador de vórtice.
- Siga el protocolo del fabricante.

B. Control Interno

Nota: Para las demás muestras, excepto la orina, se usa el gen endógeno para el control interno. Por lo tanto, no se necesita el IC adicional que se incluye en el kit.

Nota: En el kit se incluye el ASTI IC. Este permite a los usuarios confirmar no solo el procedimiento de extracción de ácido nucleico, sino también identificar cualquier inhibición de PCR.

- En lo que respecta a las muestras de orina, deben añadirse 10 µL de ASTI IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico.

C. Kits de extracción de ácido nucleico manual

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

Kit de extracción	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
QIAamp® DSP DNA Mini Kit*	QIAGEN	61304	Muestra: 200 µL**** Elución: 50 µL
QIAamp® DNA Mini Kit*	QIAGEN	51304	Muestra: 200 µL**** Elución: 50 µL
Ribo_spin vRD** (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	GeneAll	302-150 SG1701***	Muestra: 200 µL**** Elución: 50 µL

* Proceda al paso de lisis usando 180 µL de ATL buffer (tampón ATL) en lugar de AL buffer (tampón AL) para el medio SurePath™.

** Ribo_spin vRD kit no es compatible con el medio SurePath™.

*** Si quiere comprar los anteriores productos de Seegene Inc., use este número de catálogo.

**** En el caso de la muestra de orina, vuelva a suspender el sedimento con 190 µL de solución salina y añada 10 µL de ASTI IC.

D. Sistema de extracción de ácido nucleico automatizado

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

D-1. NucliSENS® easyMAG®

- Proceda a la extracción usando el **'generic protocol'**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	REF	Volumen recomendado
NucliSENS® easyMAG®	bioMérieux	200111	Muestra: 200 µL* Sílice magnética: 50 µL Elución: 100 µL

* En el caso de la muestra de orina, vuelva a suspender el sedimento con 200 µL de solución salina y añada 10 µL de ASTI IC.

D-2. SGprep32

- Proceda a la extracción usando el **"Uni-Protocol A"**.

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	REF	Volumen recomendado
SGprep32	hanwoolTPC	SGprep32-180701*	-
STARMag 96 Uniplate	Seegene	EX00003P	Muestra: 200 µL ** Elución: 100 µL
STARMag 96 UniTube	Seegene	EX00004T	Muestra: 200 µL** Elución: 100 µL

* Si quiere comprar los anteriores productos de Seegene Inc., use este número de catálogo.

** En el caso de la muestra de orina, vuelva a suspender el sedimento con 200 µL de solución salina y añada 10 µL de ASTI IC.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

D-3. SEEPREP32

- Proceda a la extracción usando el "**Pro-Protocol A**".

Sistema de extracción automatizado	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
SEEPREP32	Seegene	SG71100	-
STARMag 96 ProPrep (Plate Type)	Seegene	EX00009P	Muestra: 200 µL * Elución: 100 µL
STARMag 96 ProPrep (Tube Type)	Seegene	EX00009T	Muestra: 200 µL* Elución: 100 µL

* En el caso de la muestra de orina, vuelva a suspender el sedimento con 200 µL de solución salina y añada 10 µL de ASTI IC.

E. Resumen

Método de extracción	Dispositivo de muestreo aplicado
NucliSENS® easyMAG® ¹	ENAT, UTM, ThinPrep®, Orina
QIAamp® DNA Mini Kit QIAamp® DSP DNA Mini Kit	ENAT, UTM, Q-PAP ² , ThinPrep®, SurePath™ ³ , Orina
Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	ENAT, UTM, Q-PAP, ThinPrep®, Orina
SGprep32	ENAT, UTM, ThinPrep®, Orina
SEEPREP32	ENAT, UTM, ThinPrep®, Orina

1. Sistema NucliSENS® easyMAG®
2. Qiagen cervical sampler
3. Proceda al paso de lisis usando 180 µL de ATL buffer (tampón ATL) en lugar de AL buffer (tampón AL) para el medio SurePath™.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Preparación de PCR en tiempo real

Nota: Deben usarse los tubos, tapas y máquinas de sellado adecuados. (Véase MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS)

Nota: Deben usarse filtros resistentes a los aerosoles y guantes ajustados al preparar las reacciones de PCR. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: Descongele totalmente todos los reactivos en baño de hielo.

Nota: Centrifugue brevemente los tubos de reactivos para eliminar las gotas de dentro de la tapa.

A. Prepare la PCR Mastermix.

5 µL	4X GU MOM
5 µL	EM1
5 µL	RNase-free Water
15 µL	Volumen total de Mastermix de PCR

Nota: Calcule la cantidad que se necesita de cada reactivo necesario en función del número de reactivos (muestras + controles).

B. Mezcle invirtiendo unas 5 veces o agítelo rápido en un mezclador de vórtice, y centrifugue brevemente.

C. Alicuote 15 µL de PCR Mastermix en los tubos de PCR.

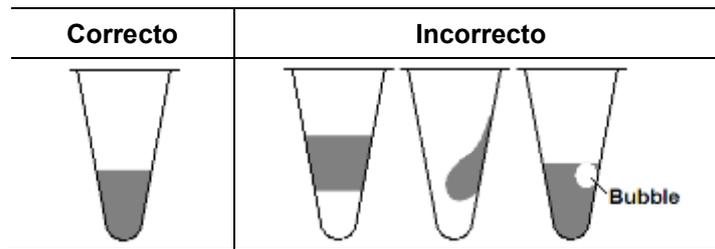
D. Añada 5 µL de ácido nucleico de cada muestra en el tubo que contiene la PCR Mastermix.

15 µL	Mastermix de PCR
5 µL	Ácido nucleico de la muestra
20 µL	Volumen total de la reacción

E. Cierre la tapa y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

F. Verifique que el líquido que contienen todos los componentes de PCR se encuentre en el fondo de cada tubo de PCR. Si no es así, centrifugue de nuevo a mayores rpm durante más tiempo.

Nota: Los tubos de PCR deben centrifugarse antes de iniciar la reacción de PCR. Es necesario hacer que el líquido vaya al fondo y así elimine las burbujas de aire.



Nota: Con cada muestra, use una nueva punta de pipeta estéril.

Nota: Para el **Control Negativo (NC)**, use 5 μ L de RNase-free Water en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el **Control Positivo (PC)**, use 5 μ L de GU PC.

Nota: Tenga cuidado de que no se produzca una contaminación cruzada del Mastermix de PCR y de las muestras con el Control Positivo.

Nota: No etiquete el tubo de reacción en su tapa. La fluorescencia se detecta desde la parte superior de cada tubo de reacción.

Nota: En lugar de usar una tapa, utilice el PX1 PCR plate sealer cuando emplee el Permanent clear heat seal.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)

1.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: La configuración del experimento en el CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

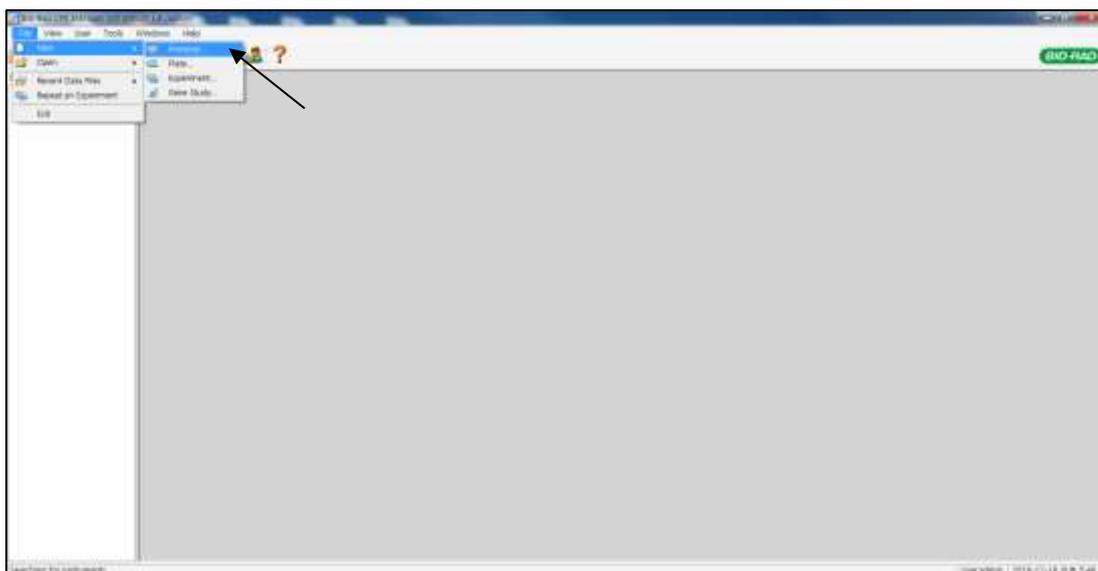


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

Paso	No. de ciclos	Temperatura	Duración
1	1	50°C	4 min
2		95°C	15 min
3	5	95°C	30 seg
4		60°C	1 min
5		72°C	30 seg
6	GOTO Paso 3, 4 veces más		
7	40	95°C	10 seg
8*		60°C	1 min
9*		72°C	10 seg
10	GOTO Paso 7, 39 veces más		

Nota*: Lectura de placa en el paso 8 y 9. La fluorescencia se detecta a 60°C y 72°C.

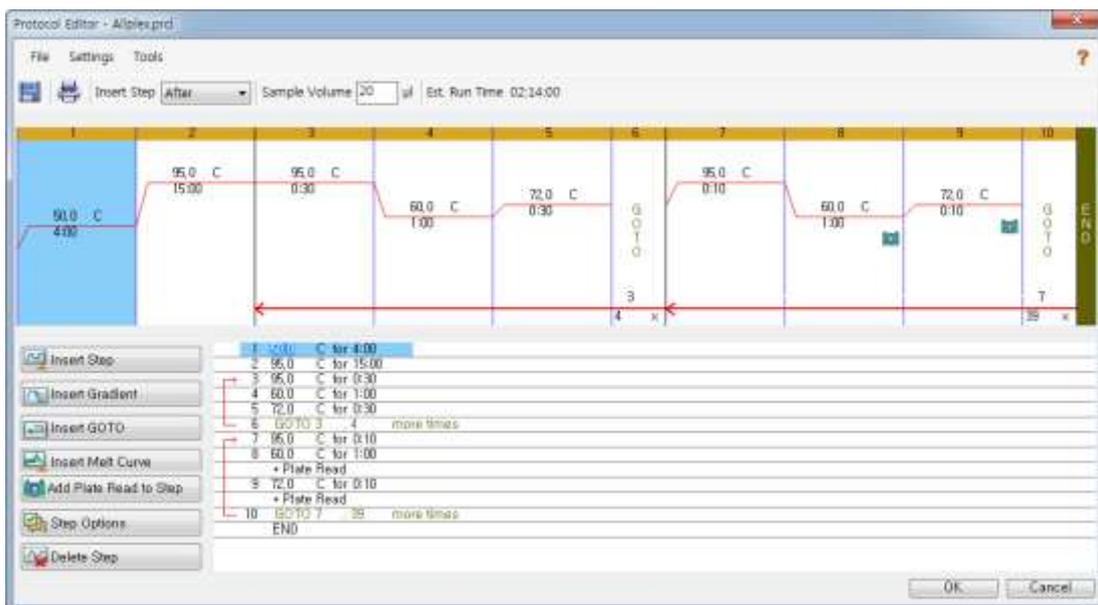


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente **20 µL**.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

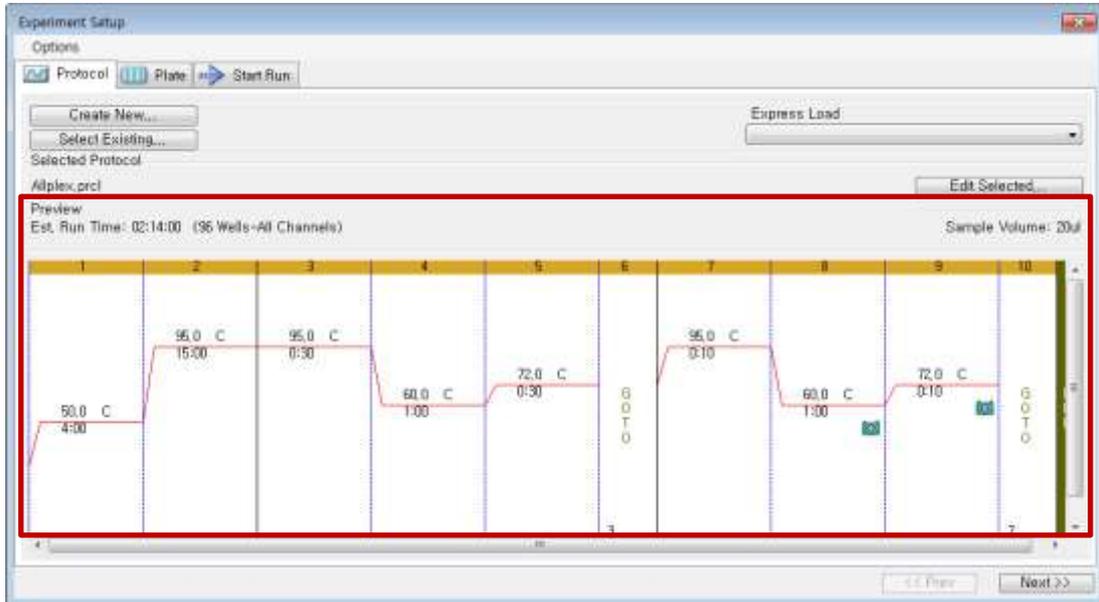


Fig. 3. **Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)**

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

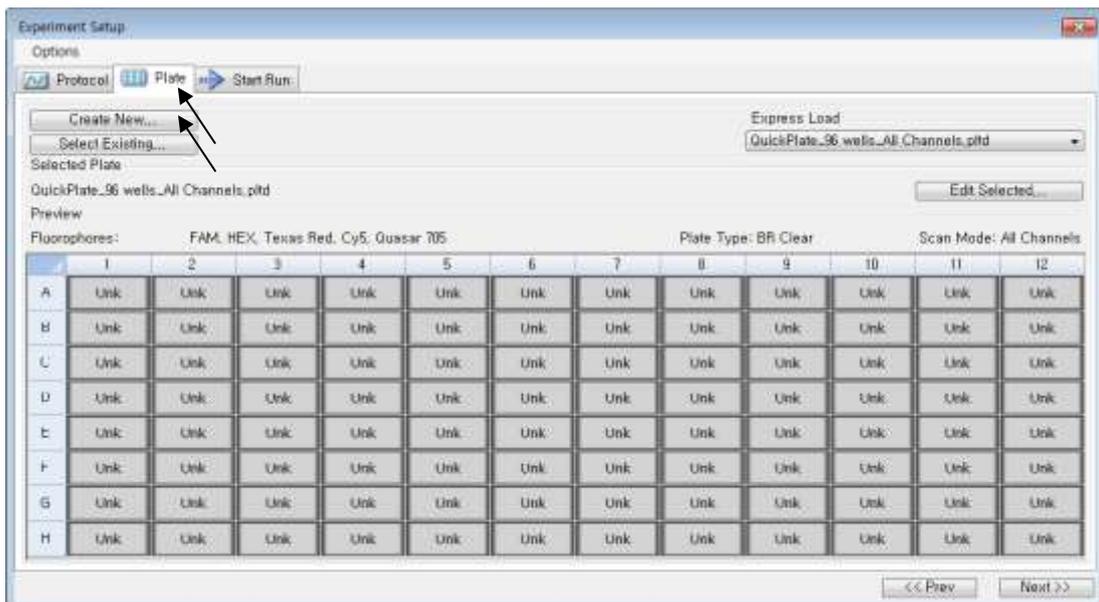


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placa)**

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

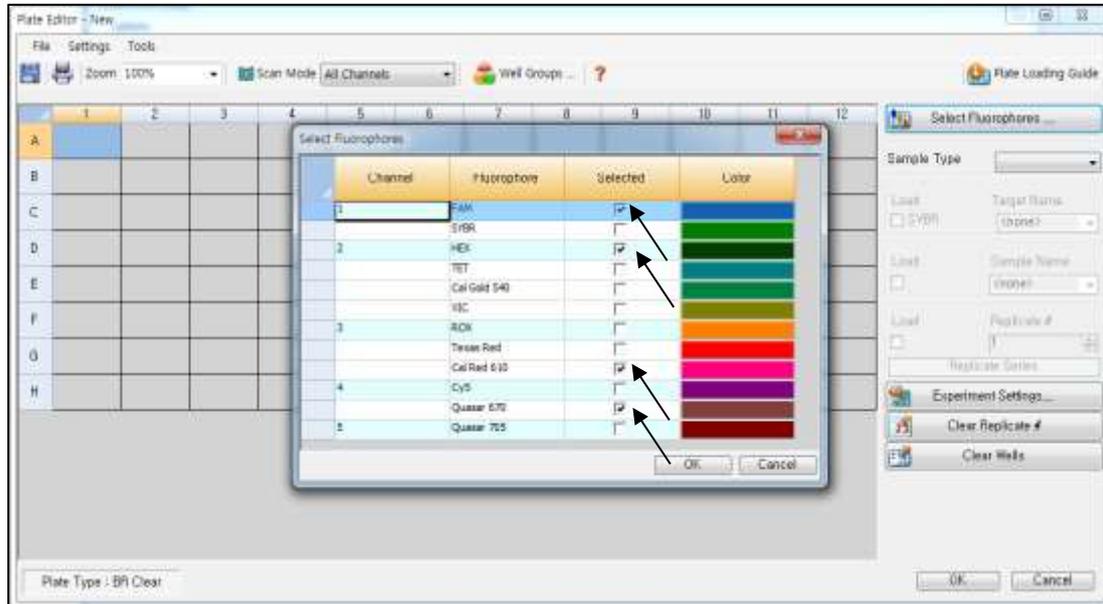


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (**FAM, HEX, Cal Red 610, y Quasar 670**)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type (Tipo de Muestra)**.

- **Unknown (Desconocidos):** muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

4) Haga clic en las casillas de verificación adecuadas (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y presione la tecla Intro.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

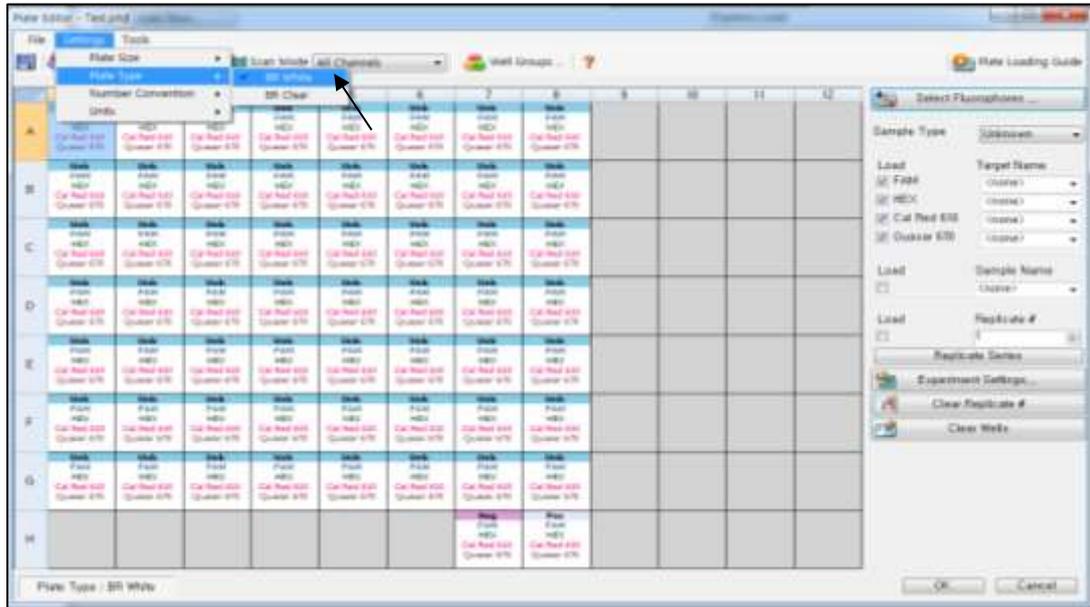


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.

8) Regresará a la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

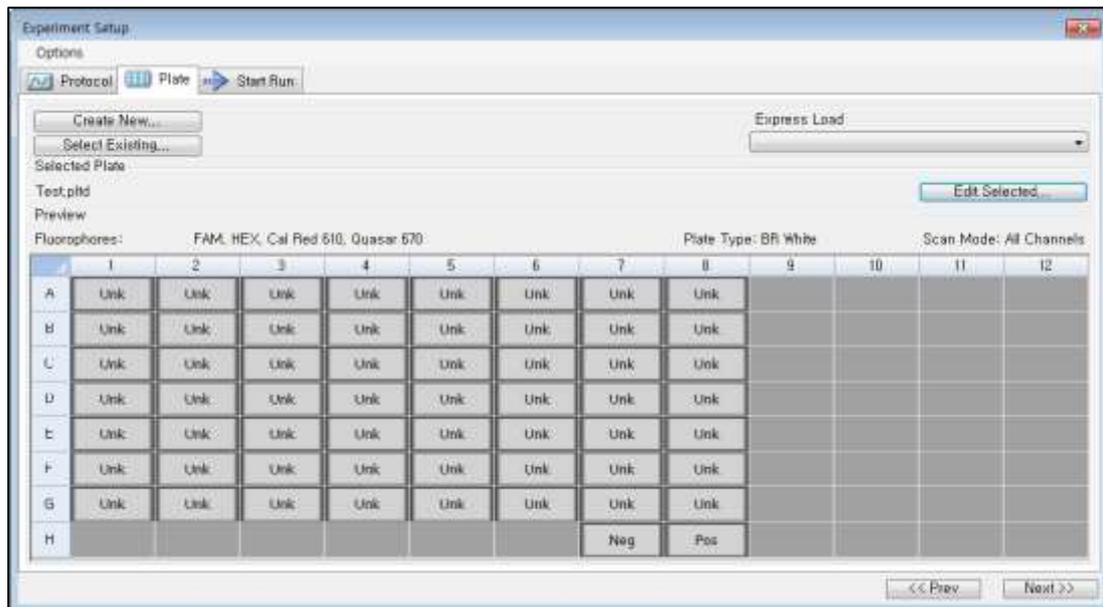


Fig. 7. Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

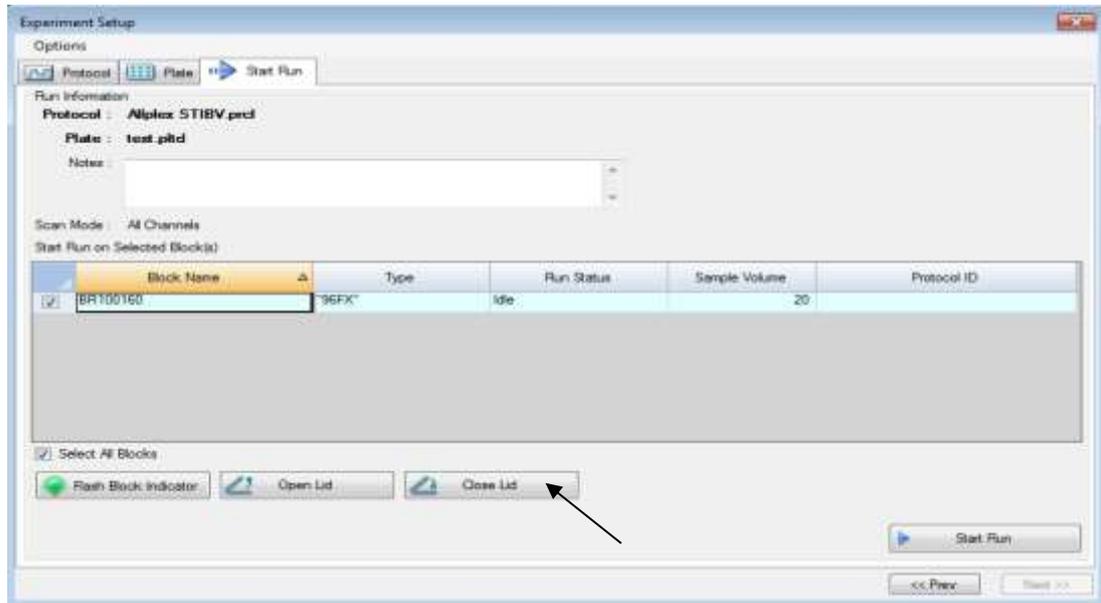


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.
3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

1.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Para guardar los datos de todos los pasos de detección de la curva de Melt a partir del archivo de resultados, cree una carpeta.
2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función "Seegene Export (Exportar Seegene)", se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep8" y "QuantStep9" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Configuración previa para el análisis Gestor de CFX Manager™

1) Después del test, haga clic en la pestaña Quantitation (Cuantificación) para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

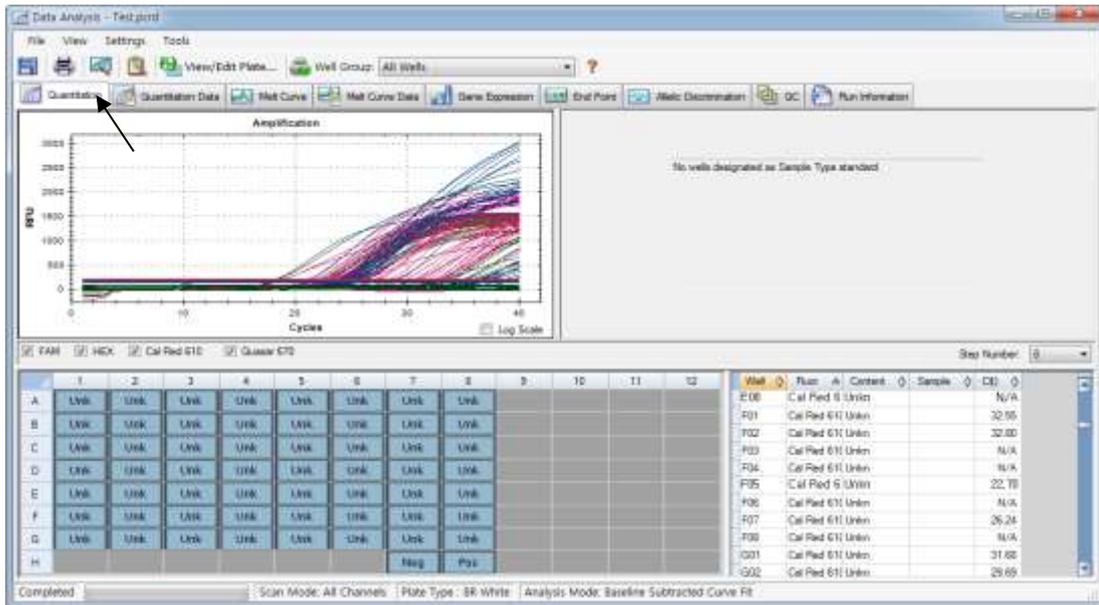


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el Analysis Mode (Modo Análisis) del menú Settings (Configuración).

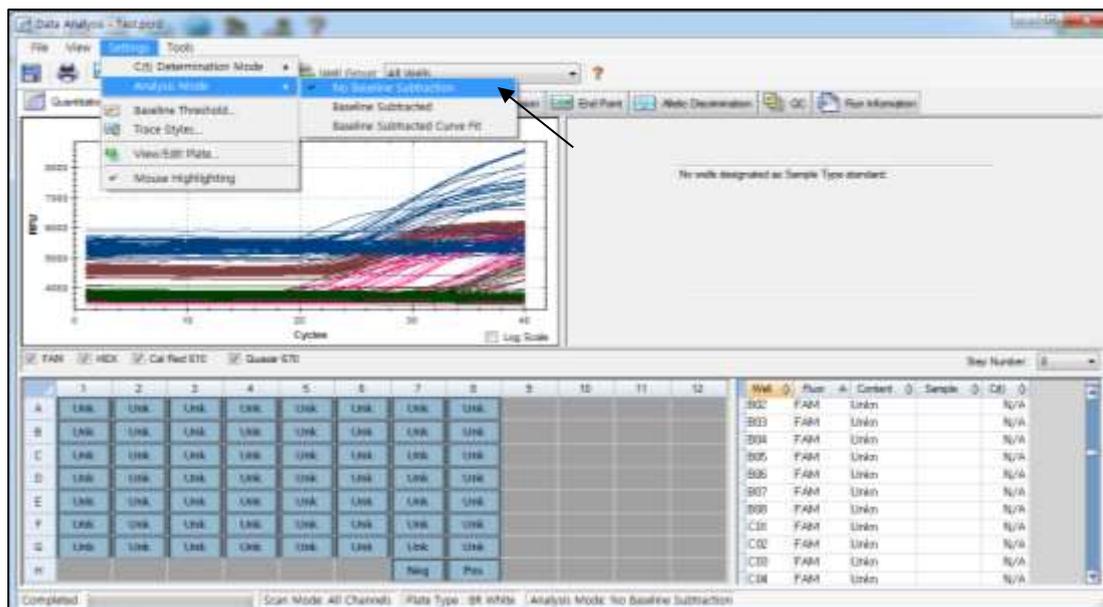


Fig. 10. No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)

3) Seleccione **Seegene Export (Exportar Seegene)** en el menú Tools (Herramientas).

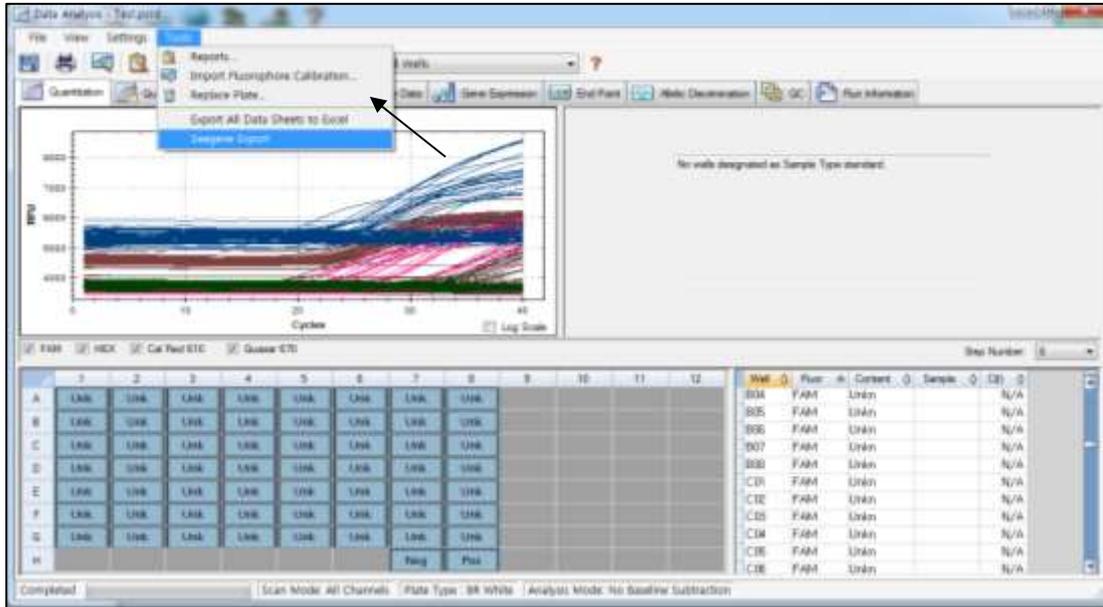


Fig. 11. **Seegene Export (Exportar Seegene)**

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

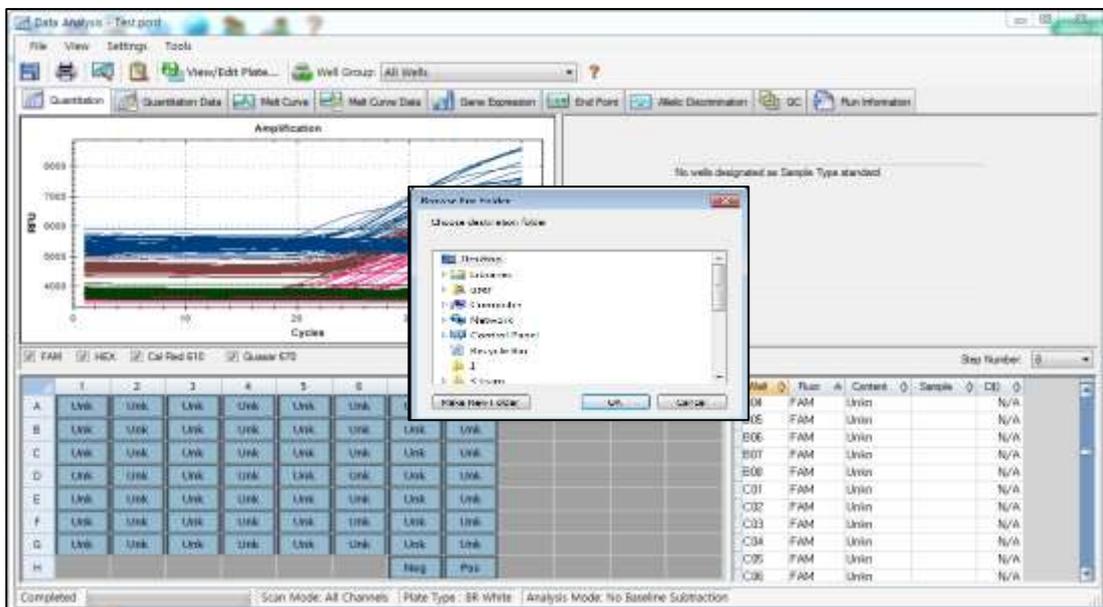


Fig. 12. **Seegene Export (Exportar Seegene) a la carpeta indicada**

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

- 1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option (Opciones)** para seleccionar **CFX96** en **Instrument (Instrumento)**.

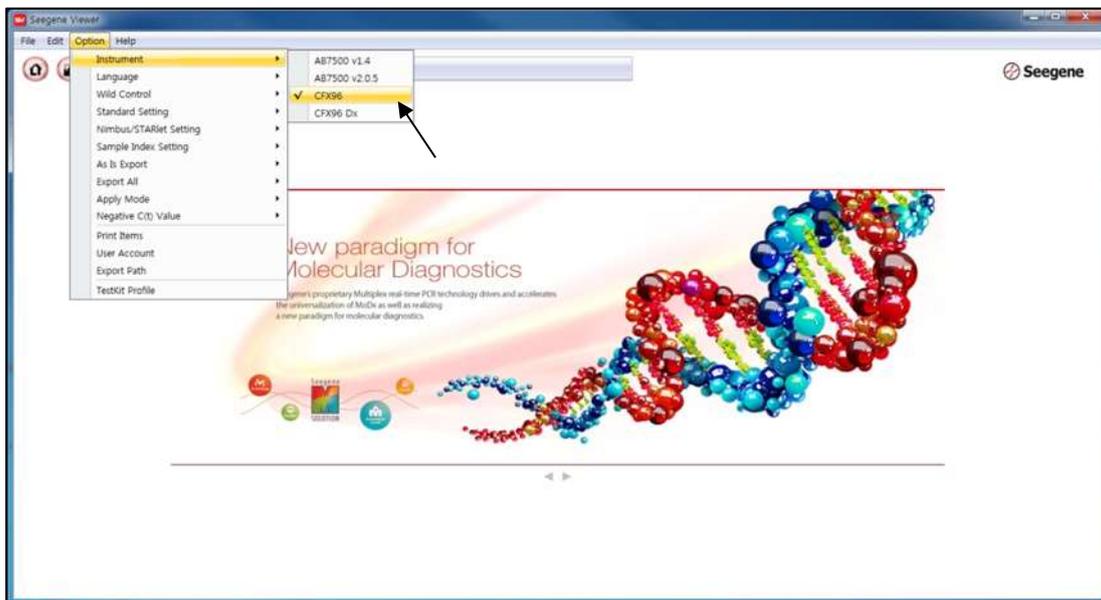


Fig. 13. Seegene Viewer

- 2) Haga clic en **Open (Abrir)** para explorar los archivos guardados en la carpeta “QuantStep8”, abra el archivo de los resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

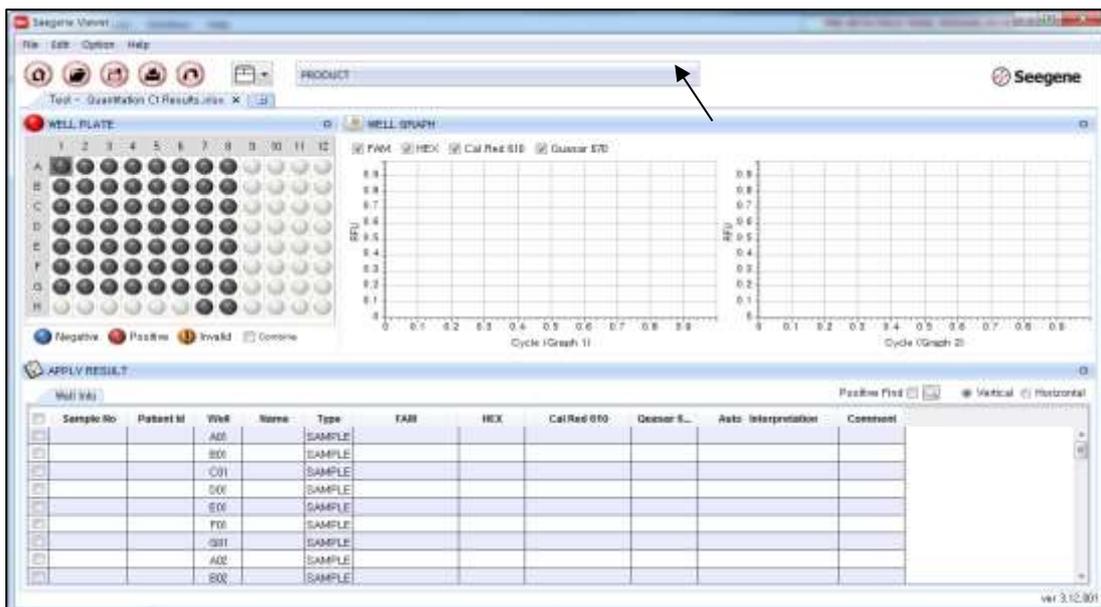


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

Nota: Verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit del test (8 strip / 96 cap / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

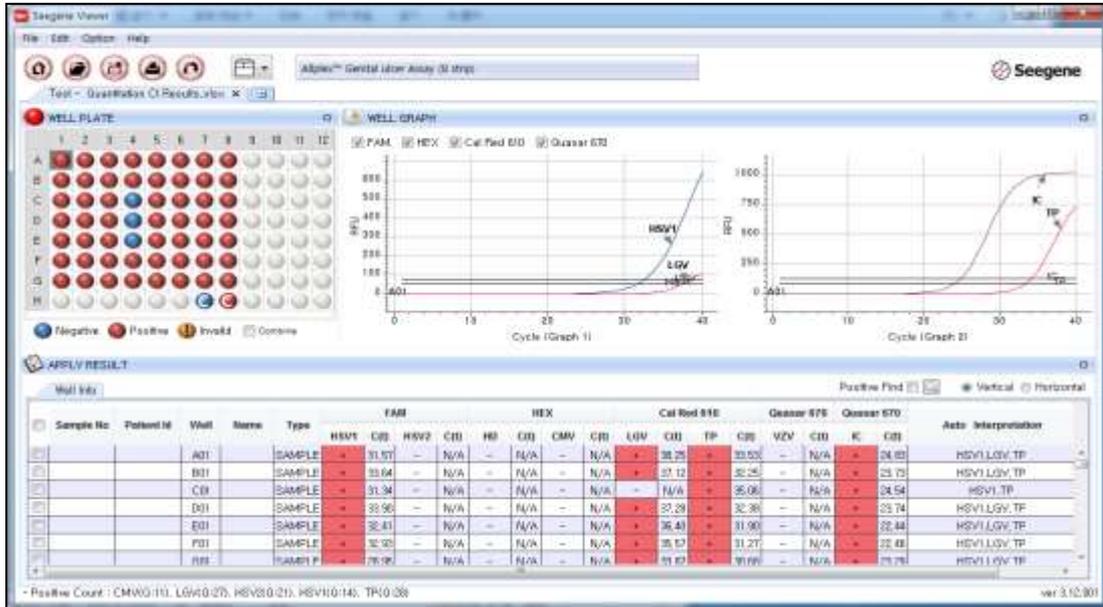


Fig. 15. Resultado del test en Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)

2.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: La configuración del experimento para el sistema CFX96™ Dx (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

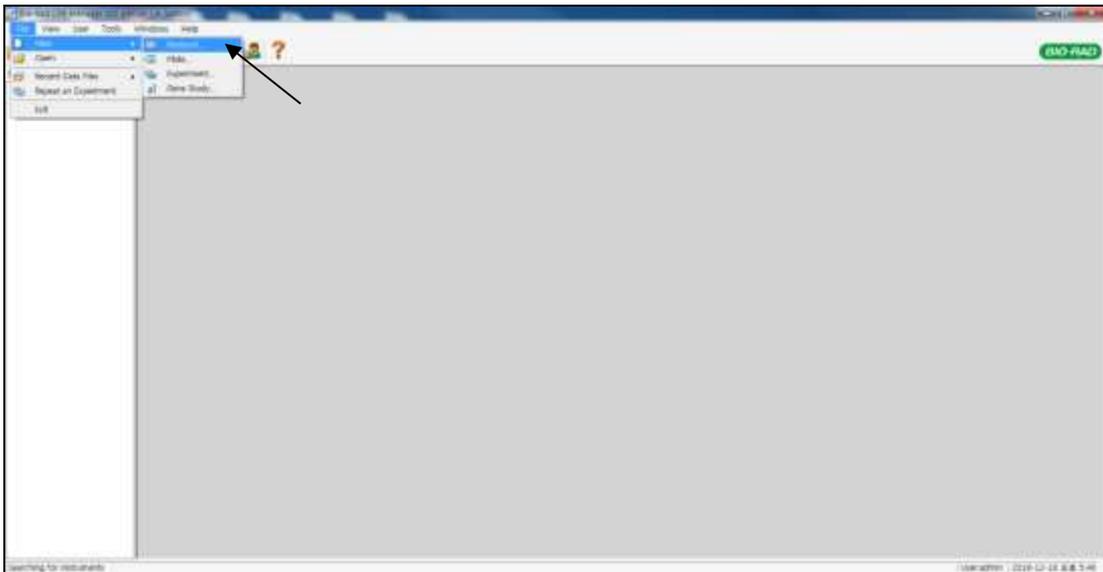


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

Paso	No. de ciclos	Temperatura	Duración
1	1	50°C	4 min
2		95°C	15 min
3	5	95°C	30 seg
4		60°C	1 min
5		72°C	30 seg
6	GOTO Paso 3, 4 veces más		
7	40	95°C	10 seg
8*		60°C	1 min
9*		72°C	10 seg
10	GOTO Paso 7, 39 veces más		

Nota*: Lectura de placa en el paso 8 y 9. La fluorescencia se detecta a 60°C y 72°C.

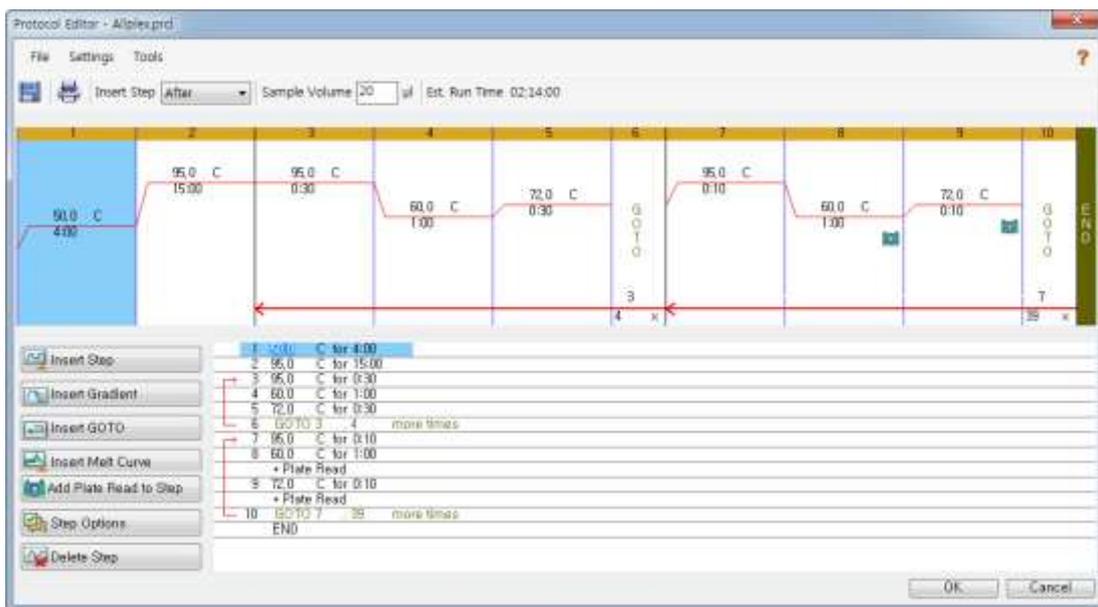


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**.

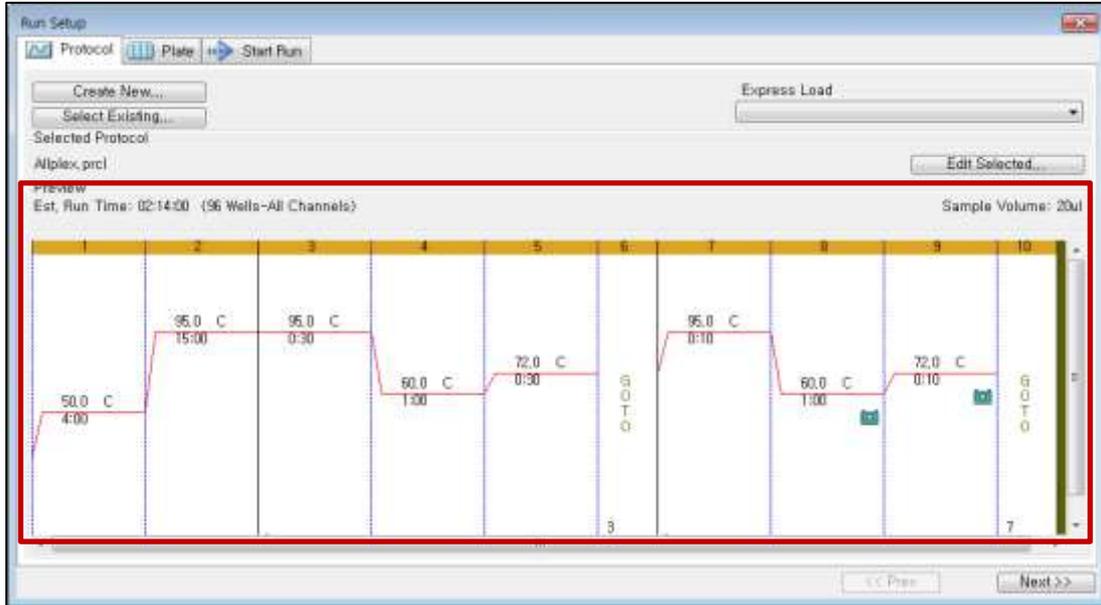


Fig. 3. Run Setup (Configuración del Ejecutar): Protocol (Protocolo)

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

- En la pestaña **Plate (Placa)** en **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

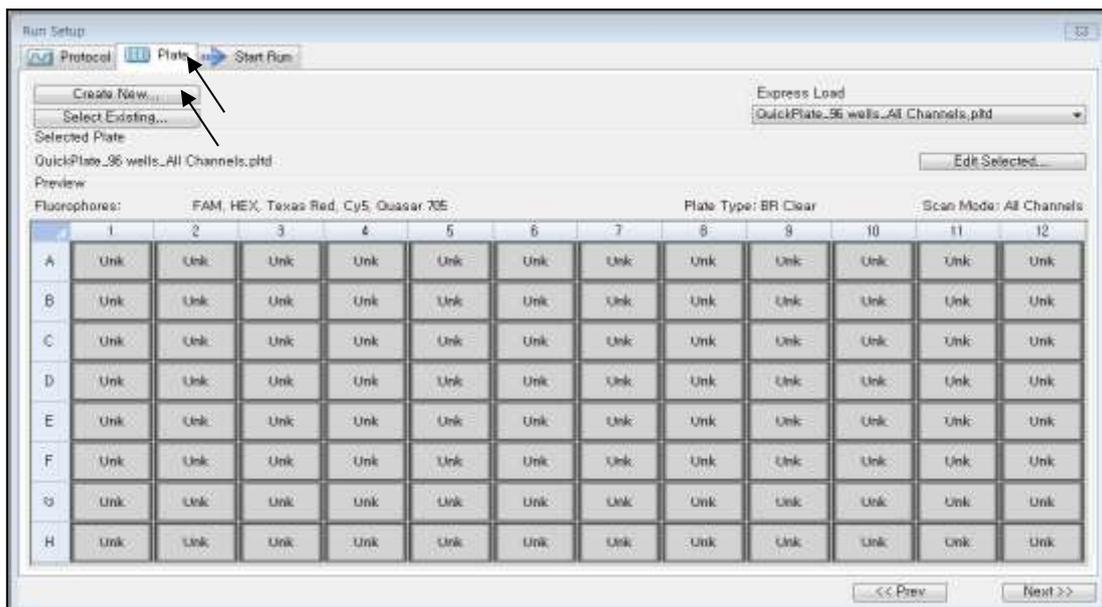


Fig. 4. Plate Editor (Editor de placa)

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

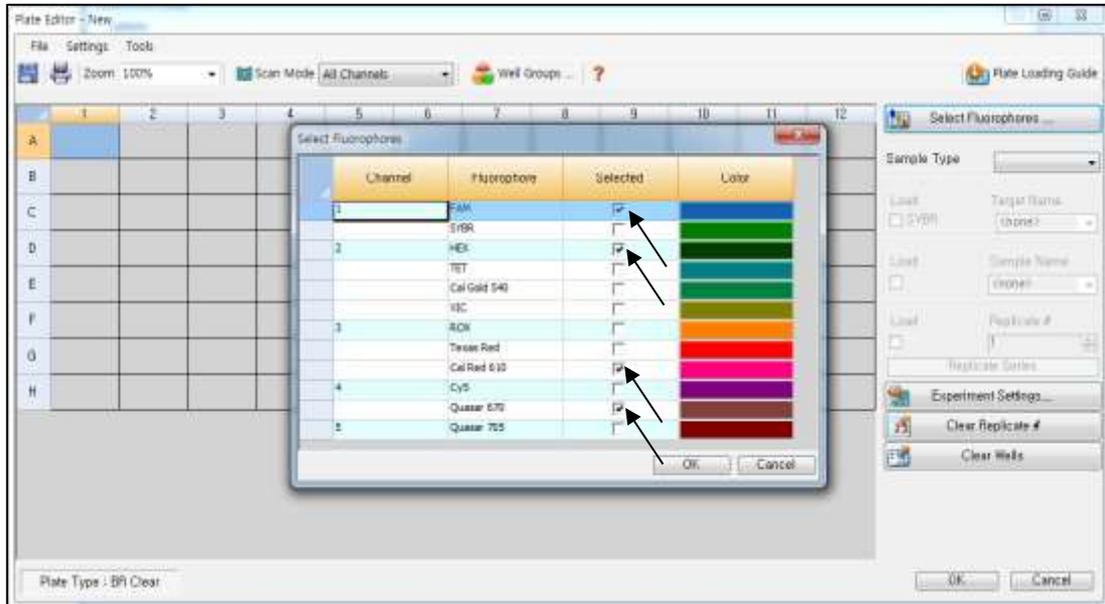


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (**FAM, HEX, Cal Red 610, y Quasar 670**)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type (Tipo de Muestra)**.

- **Unknown (Desconocidos)**: muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

4) Haga clic en las casillas de verificación adecuadas (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y presione la tecla Intro.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

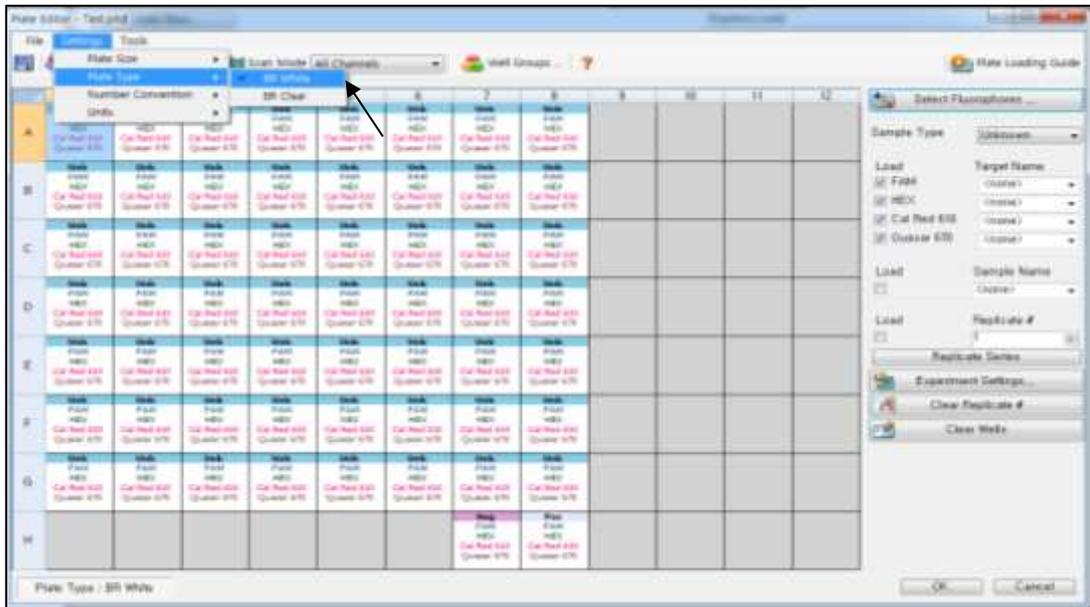


Fig. 6. **Plate Setup (Configuración de la placa)**

7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.

8) Regresará a la ventana **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**.

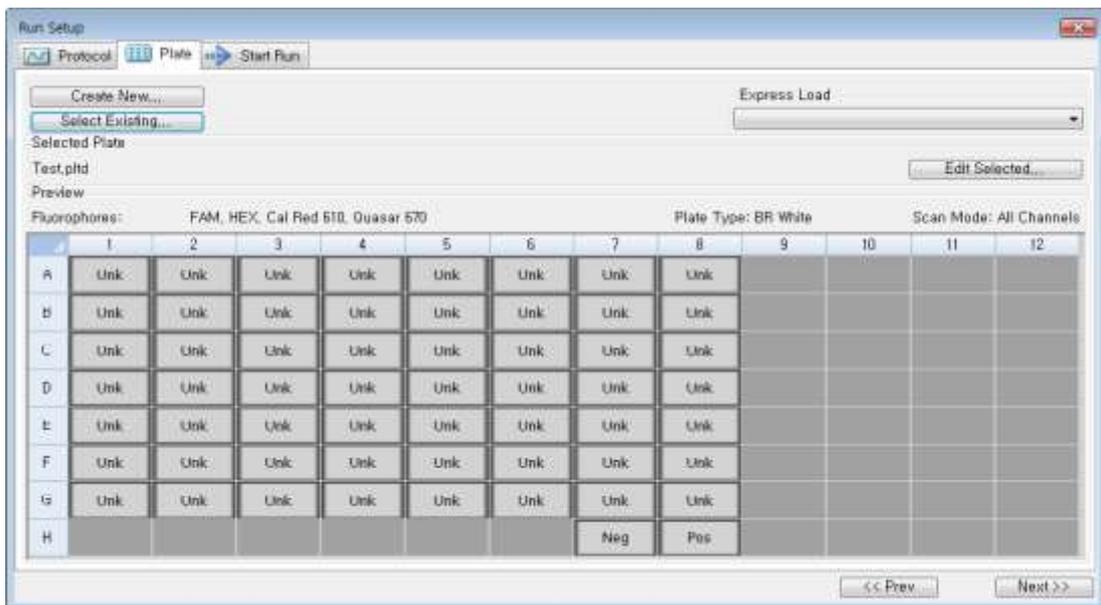


Fig. 7. **Run Setup (Configuración del Ejecutar): Plate (Placa)**

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

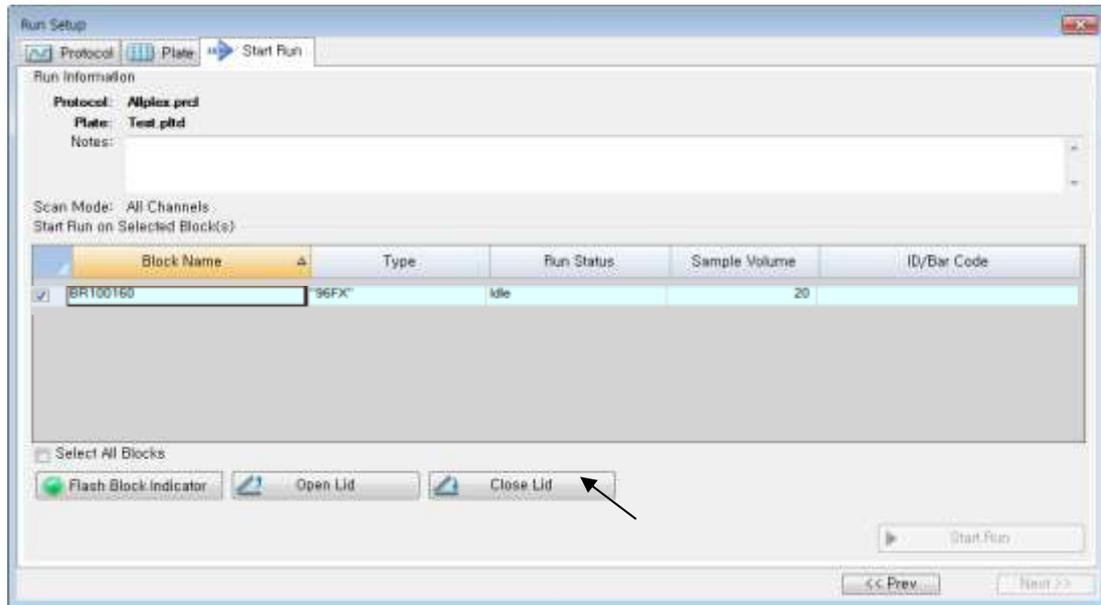


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.
3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

2.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Para guardar los datos de todos los pasos de detección de la curva de Melt a partir del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función "Seegene Export (Exportar Seegene)", se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep8" y "QuantStep9" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Configuración previa para el análisis Gestor de CFX Manager™

1) Después del test, haga clic en la pestaña Quantitation (Cuantificación) para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

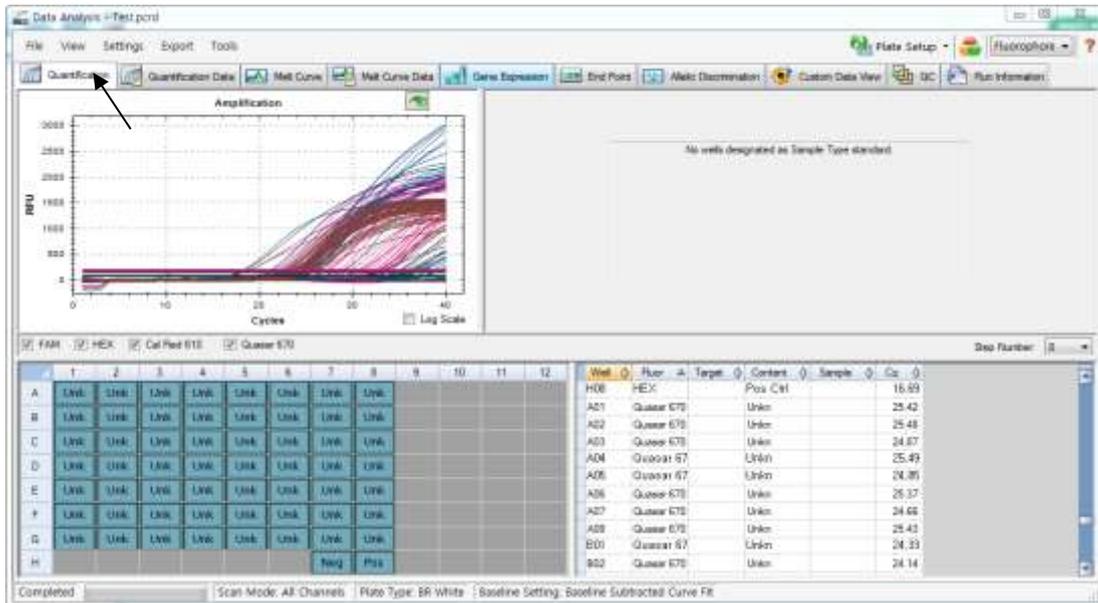


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el menú Settings (Configuración) de **Baseline Setting (Configuración de valor basal)**.

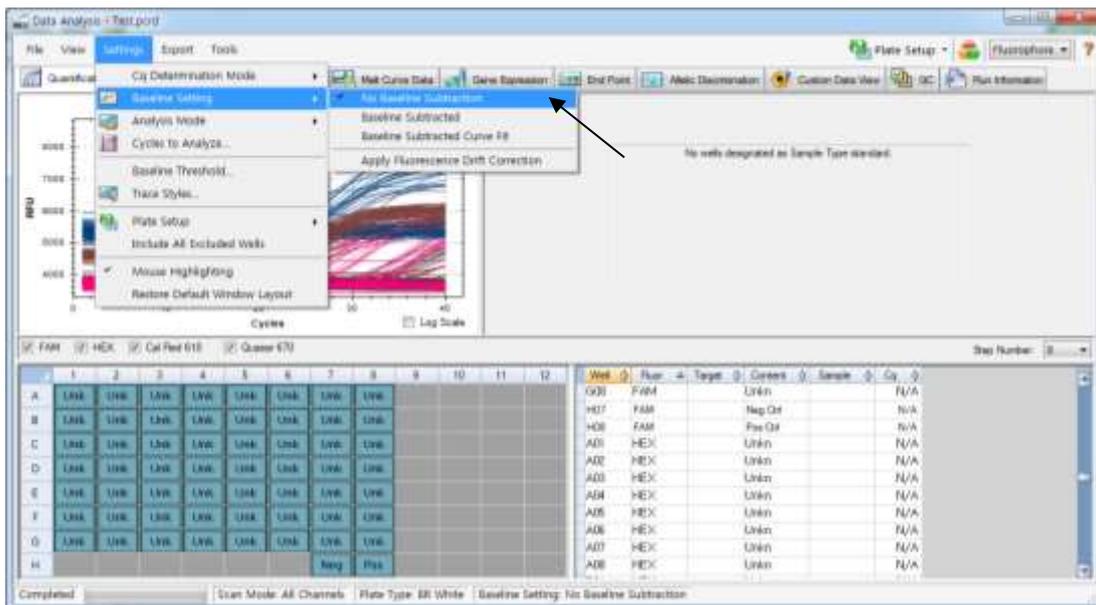


Fig. 10. No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3) Seleccione **Seegene Export (Exportar Seegene)** en el menú **Export (Exportación)**.

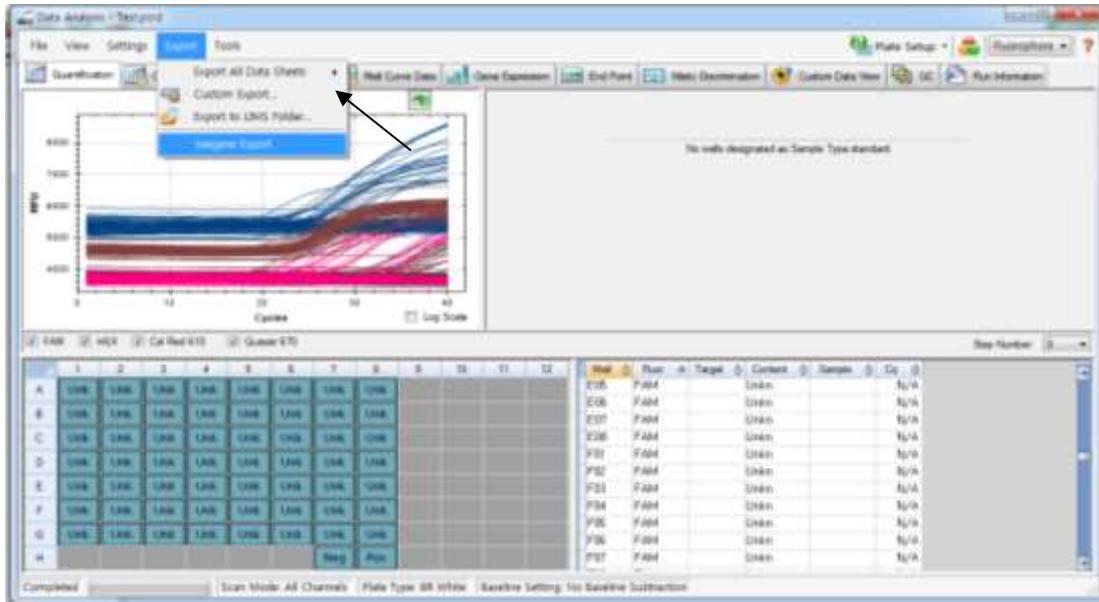


Fig. 11. **Seegene Export (Exportar Seegene)**

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

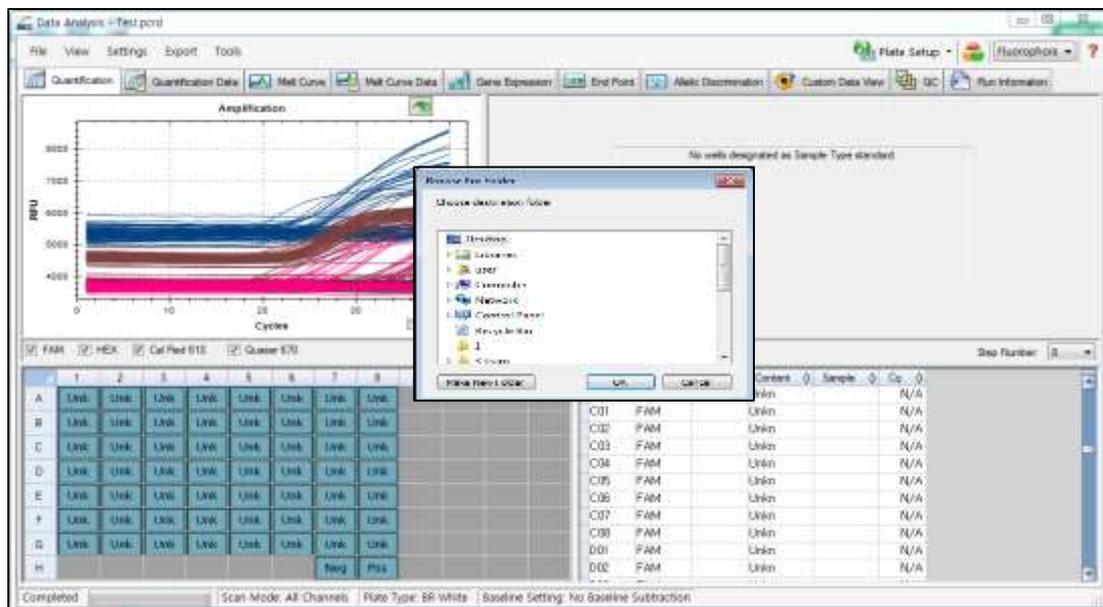


Fig. 12. **Seegene Export (Exportar Seegene) a la carpeta indicada**

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option (Opción)** para seleccionar **CFX96 Dx** en el **Instrument (Instrumento)**.

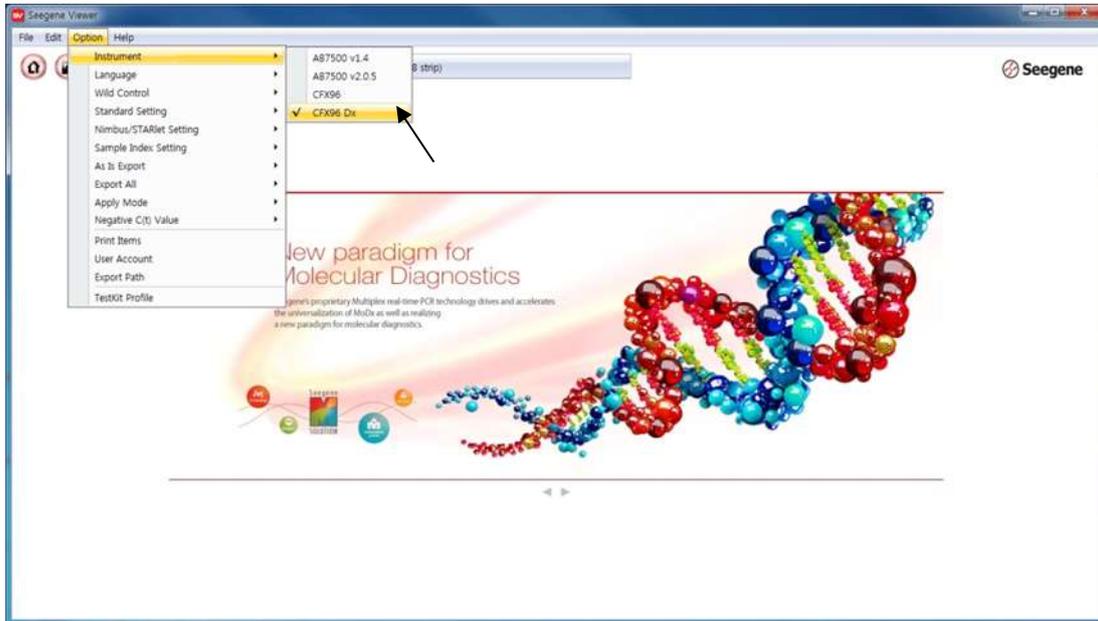


Fig. 13. Seegene Viewer

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para encontrar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep8", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

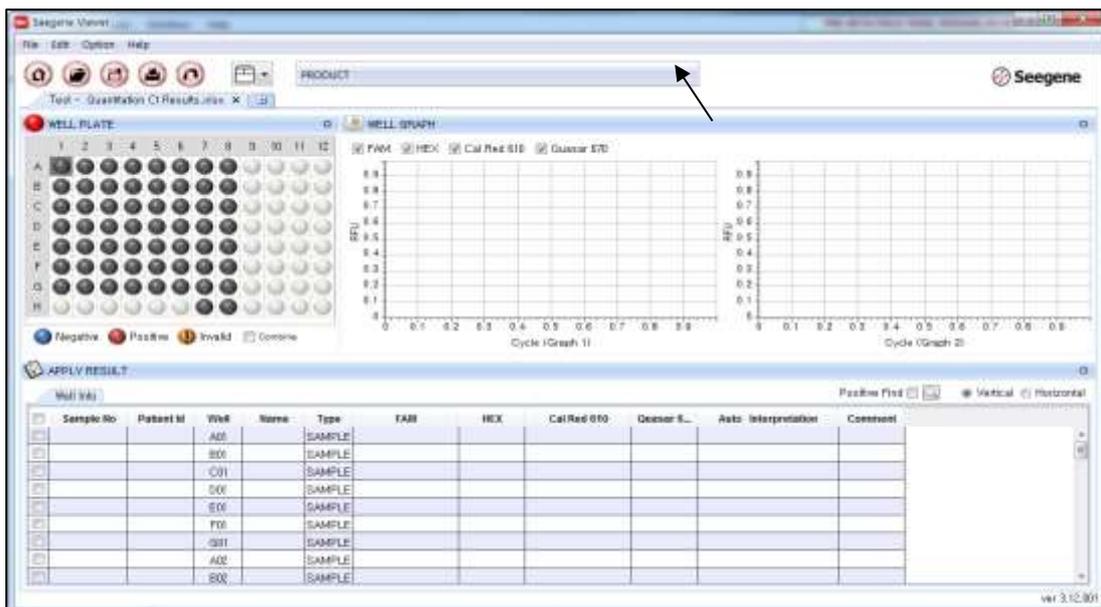


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

Nota: Verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit del test (8 strip / 96 cap / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

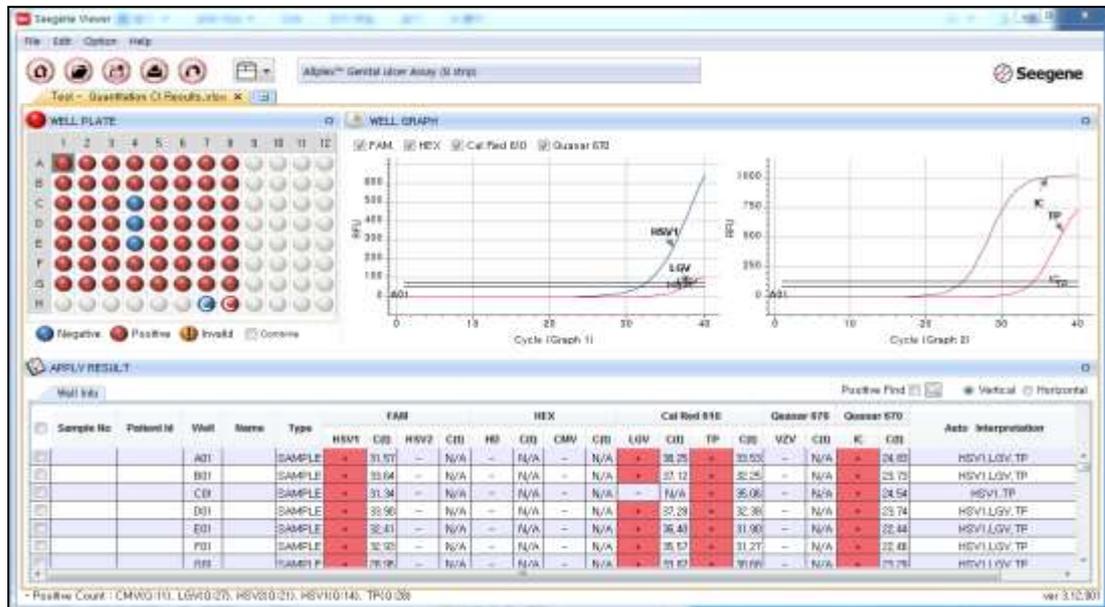


Fig. 15. Resultado del test en Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RESULTADOS
1. Información de los analitos

Fluoróforo	Analito	
	Gráfico 1	Gráfico 2
FAM	Herpes simplex virus 1 (HSV1)	Herpes simplex virus 2 (HSV2)
HEX	<i>Haemophilus ducreyi</i> (HD)	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)
Cal Red 610	Lymphogranuloma venereum (LGV)	<i>Treponema pallidum</i> (TP)
Quasar 670	Varicella-zoster virus (VZV)	Control Interno (IC)

2. Interpretación de los resultados

Analito	Valor C_t	Resultado
Objetivos	≤ 40	Detectado (+)
	N/A	No detectado (-)
IC	≤ 40	Detectado (+)
	N/A	No detectado (-)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Resultado Objetivo		Resultado IC	Interpretación
Gráfico 1	Gráfico 2		
+	-	+	Ácido nucleico objetivo, Detectado
-	+		
+	+		
+	-	-	Ácido nucleico objetivo, Detectado* - Los objetivos GU adicionales que no se detectaron pueden estar presentes
-	+		
+	+		
-	-	+	Ácido nucleico objetivo, no detectado
-	-	-	No válido** - El hecho de que la señal de IC sea débil o negativa indica que la recogida de muestras o el proceso se realizaron de manera inadecuada, o hay presencia de inhibidores. - Repita el test desde la extracción de ácido nucleico usando otra parte alícuota de la muestra original. - Si se repite el mismo resultado al volver a extraer el ácido nucleico, diluya la muestra (1/3~1/10) en una solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción.

* Para un resultado positivo de los patógenos objetivo, no se requiere la detección del Control Interno en el canal Quasar 670. Una carga elevada de otro analito puede conducir a una señal de Control Interno reducida o a su ausencia.

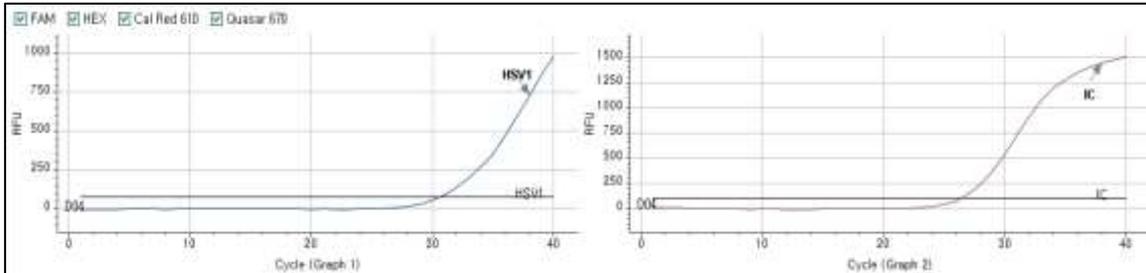
** Si no se observa ninguna de las señales que incluyan el Control Interno, véase SOLUCIÓN DE PROBLEMAS.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

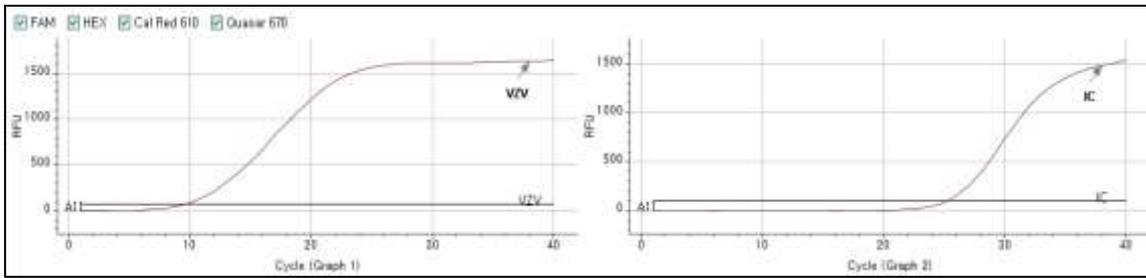
Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Aplicación a muestras clínicas

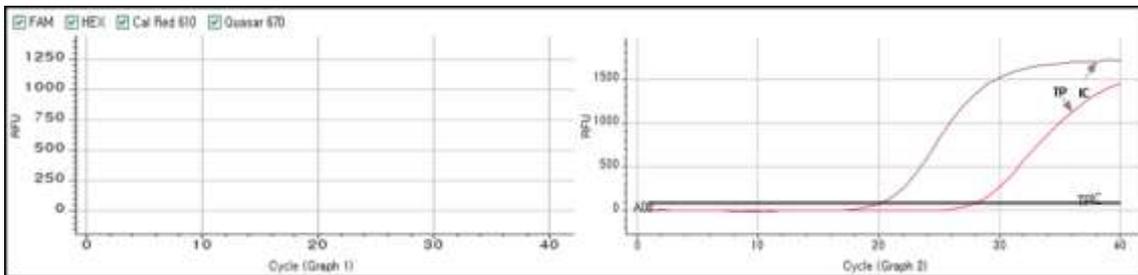
Muestra 1



Muestra 2



Muestra 3



Muestra	FAM				HEX				Cal Red 610				Quasar 670		Quasar 670		Interpretación Automática
	HSV1	C(t)	HSV2	C(t)	HD	C(t)	CMV	C(t)	LGV	C(t)	TP	C(t)	VZV	C(t)	IC	C(t)	
1	+	30,76	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	26,35	HSV1
2	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	9,47	+	25,33	VZV
3	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	27,61	-	N/A	+	20,33	TP

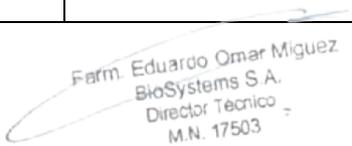
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ Genital ulcer Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
No se observa señal	Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo.	Seleccione los fluoróforos adecuados para el análisis de datos.
	Configuración incorrecta del termociclador en tiempo real	Compruebe las condiciones del ciclo térmico y repita el test con la configuración adecuada.
	Almacenamiento incorrecto o posterior a la fecha de caducidad del kit del test.	Compruebe las condiciones de almacenamiento (véase página 10) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit del test y use un nuevo kit si fuese necesario.
	Fallo en la extracción de ácido nucleico	Si se añadió el IC a la muestra antes de la extracción, la ausencia de señal de IC puede indicar una pérdida de ácido nucleico durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado. Si es debido a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra original o puede diluir la muestra en una solución salina 1/3~1/10 y luego añadir ASTI IC a la muestra diluida. El ASTI IC solo debe utilizarse con muestras de orina.
No se observa señal de Control Interno	Alta carga de ácido nucleico del patógeno	Si se observa la señal del patógeno objetivo, pero no la del IC, entonces la amplificación del IC pudo haberse inhibido por una alta carga del patógeno objetivo.
	Presencia de inhibidor PCR	Diluya el ácido nucleico del modelo (1/10~1/100) en RNase-free Water y repita la prueba con el ácido nucleico diluido. Si la muestra todavía está presente, diluya la muestra (1/10~1/100) en una solución salina y repita el test con la muestra diluida.
Picos en los ciclos de la curva de amplificación	Burbujas en el tubo de PCR	Centrifugue el tubo de PCR antes del inicio.

Allplex™ Genital ulcer Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
Se observan supuestos falsos positivos o señales objetivo en el Control Negativo	Contaminación	Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Use solo puntas de filtro durante el procedimiento y cámbielas entre cada tubo. Repita el procedimiento entero desde la extracción de ácido nucleico con el nuevo conjunto de reactivos.
No se observan señales o supuestos falsos negativos en el Control Positivo	Error en la recogida de muestras	Compruebe el método de recogida de la muestra y vuelva a recogerla.
	Almacenamiento incorrecto de la muestra	Vuelva a recoger la muestra y repita el procedimiento entero. Asegúrese de que la muestra se almacena de la manera recomendada.
	Error en la extracción de ácido nucleico	Compruebe el procedimiento de extracción del ácido nucleico así como la concentración de ácido nucleico, y vuelva a extraerlo.
	Error al añadir ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes	Compruebe los números de muestra de los tubos que contienen el ácido nucleico y asegúrese de añadir ácido nucleico a los tubos de PCR adecuados. Repita cuidadosamente la prueba si fuese necesario.
	Presencia de inhibidor	Diluya el ácido nucleico del modelo (1/10~1/100) en RNase-free Water y repita la prueba con el ácido nucleico diluido. Si la muestra todavía está presente, dilúyala (1/10~1/100) en una solución salina y repita el test con la muestra diluida.
	Mezcla de PCR incorrecta	Confirme que todos los componentes se añadan a la mezcla de PCR (la sensibilidad puede verse afectada por las premezclas anteriormente realizadas). Deben homogeneizarse todos los reactivos y centrifugarse antes de usar.


 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

RENDIMIENTO
1. Especificidad

La alta especificidad de Allplex™ Genital ulcer Assay viene garantizada por los oligos diseñados específicamente para los objetivos de interés según las condiciones de reacción definidas. Allplex™ Genital ulcer Assay se probó para la reactividad cruzada de 122 patógenos diferentes, y la detección y amplificación de PCR solo se identificaron en los objetivos especificados.

Núm	Organismo	Fuente	Aislado Núm	Resultado†
1	<i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV I)*	ATCC	VR-901B	LGV Detectado
2	<i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV II)*	Advanced	08-931-000	LGV Detectado
3	<i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV III)*	ATCC	VR-903	LGV Detectado
4	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	ATCC	VR-807	CMV Detectado
5	<i>Haemophilus ducreyi</i>	ATCC	700724D-5	HD Detectado
6	Herpes simplex virus 1	ATCC	VR-260	HSV1 Detectado
7	Herpes simplex virus 2	ATCC	VR-734	HSV2 Detectado
8	<i>Treponema pallidum</i>	Vircell	MBC109	TP Detectado
9	Varicella-zoster virus	ATCC	VR-1367	VZV Detectado
10	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC	15308	No detectado
11	<i>Acinetobacter schindleri</i>	KCTC	12409	No detectado
12	<i>Acinetobacter ursingii</i>	KCTC	12410	No detectado
13	<i>Atopobium parvulum</i>	KCTC	3663	No detectado
14	<i>Atopobium vaginae</i>	ATCC	BAA-55	No detectado
15	<i>Bacteroides caccae</i>	KCTC	5132	No detectado
16	<i>Bacteroides fragilis</i>	KCTC	3688	No detectado
17	<i>Bacteroides ovatus</i>	KCTC	5827	No detectado
18	<i>Bacteroides vulgatus</i>	KCCM	11423	No detectado
19	<i>Bacteroides xylanisolvens</i>	KCTC	15192	No detectado
20	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	KCCM	11206	No detectado
21	<i>Bifidobacterium longum</i>	KCCM	11953	No detectado
22	<i>Bifidobacterium minimum</i>	KCTC	3273	No detectado
23	<i>Candida albicans</i>	ATCC	10231D-5	No detectado
24	<i>Candida dubliniensis</i>	KCTC	17427	No detectado
25	<i>Candida glabrata</i>	ATCC	36909D	No detectado

26	<i>Candida krusei</i>	KCCM	50633	No detectado
27	<i>Candida lusitanae</i>	KCCM	50541	No detectado
28	<i>Candida orthopsilosis</i>	ATCC	96139	No detectado
29	<i>Candida parapsilosis</i>	KCTC	7653	No detectado
30	<i>Candida tropicalis</i>	KCTC	7212	No detectado
31	<i>Candida metapsilosis</i>	ATCC	96144D	No detectado
32	<i>Chlamydia trachomatis</i>	ATCC	VR-1500	No detectado
33	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar A)	ATCC	VR-571B	No detectado
34	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar B)	ATCC	VR-573	No detectado
35	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar Ba)	ATCC	VR-347	No detectado
36	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar C)	ATCC	VR-1477	No detectado
37	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar D)	ATCC	VR-885	No detectado
38	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar E)	ATCC	VR-348B	No detectado
39	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar F)	ATCC	VR-346	No detectado
40	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar G)	ATCC	VR-878	No detectado
41	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar H)	ATCC	VR-879D	No detectado
42	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar I)	ATCC	VR-880	No detectado
43	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar J)	ATCC	VR-886	No detectado
44	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar K)	ATCC	VR-887	No detectado
45	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	ATCC	VR-1360	No detectado
46	<i>Chlamydophila psittaci</i>	ATCC	VR-125	No detectado
47	<i>Clostridium difficile</i> (Toxin A+ / B+)	ATCC	9689	No detectado
48	<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC	13124	No detectado
49	<i>Enterococcus avium</i>	ATCC	49603D	No detectado
50	Epstein Barr Virus	ATCC	VR-602	No detectado
51	<i>Escherichia coli</i>	ATCC	15489	No detectado
52	<i>Gardnerella vaginalis</i>	ATCC	49145D	No detectado
53	<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC	51907D	No detectado
54	Hepatitis A virus (HAV)	ATCC	VR-1402	No detectado
55	Hepatitis B virus (HBV)	NIBSC	10/264	No detectado
56	Hepatitis C virus (HCV)	NIBSC	06/102	No detectado
57	Human Papilloma Virus 16	ATCC	45113D	No detectado
58	Human Papilloma Virus 18	ATCC	45152D	No detectado
59	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	KCCM	32820	No detectado

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APROBADA
BioSystems S.A.

60	<i>Lactobacillus amylovorus</i>	KCCM	40431	No detectado
61	<i>Lactobacillus brevis</i>	KCCM	40399	No detectado
62	<i>Lactobacillus casei</i>	KCCM	12452	No detectado
63	<i>Lactobacillus crispatus</i>	KCTC	5054	No detectado
64	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i>	KCCM	35468	No detectado
65	<i>Lactobacillus fermentum</i>	KCCM	40401	No detectado
66	<i>Lactobacillus fornicalis</i>	ATCC	700934	No detectado
67	<i>Lactobacillus gallinarum</i>	KCCM	40987	No detectado
68	<i>Lactobacillus gasseri</i>	KCTC	3163	No detectado
69	<i>Lactobacillus helveticus</i>	KCCM	41823	No detectado
70	<i>Lactobacillus iners</i>	ATCC	55195	No detectado
71	<i>Lactobacillus intestinalis</i>	KCCM	40990	No detectado
72	<i>Lactobacillus jensenii</i>	KCTC	5194	No detectado
73	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	KCCM	32825	No detectado
74	<i>Lactobacillus kefirifaciens</i>	KCCM	41275	No detectado
75	<i>Lactobacillus oris</i>	KCCM	40993	No detectado
76	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	KCTC	3503	No detectado
77	<i>Lactobacillus pentosus</i>	KCCM	40997	No detectado
78	<i>Lactobacillus plantarum</i>	KCCM	12116	No detectado
79	<i>Lactobacillus reuteri</i>	KCCM	40717	No detectado
80	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	KCCM	32405	No detectado
81	<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>Salicinius</i>	KCCM	40998	No detectado
82	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	ATCC	27651	No detectado
83	<i>Lactobacillus ultunensis</i>	KCTC	5857	No detectado
84	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	KCCM	49540	No detectado
85	<i>Mobiluncus curtisii</i>	ATCC	35241	No detectado
86	<i>Mobiluncus mulieris</i>	ATCC	35240D-5	No detectado
87	<i>Mycoplasma arginini</i>	ATCC	23838D	No detectado
88	<i>Mycoplasma felis</i> Cole et al.	ATCC	23391	No detectado
89	<i>Mycoplasma genitalium</i>	ATCC	33530D	No detectado
90	<i>Mycoplasma hominis</i>	ATCC	23114D	No detectado
91	<i>Mycoplasma iowae</i> Jordan et al.	ATCC	33552	No detectado
92	<i>Mycoplasma leonicaptivi</i> Hill	ATCC	49890	No detectado
93	<i>Mycoplasma pneumonia</i>	ATCC	29342	No detectado

94	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	ATCC	19612	No detectado
95	<i>Mycoplasma spumans</i>	ATCC	19526	No detectado
96	<i>Neisseria cinerea</i>	ATCC	14685	No detectado
97	<i>Neisseria flavescens</i>	ATCC	13120	No detectado
98	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	700825D	No detectado
99	<i>Neisseria lactamica</i>	ATCC	23970	No detectado
100	<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC	700532D	No detectado
101	<i>Neisseria mucosa</i>	ATCC	19696	No detectado
102	<i>Neisseria perflava</i>	ATCC	14799D-5	No detectado
103	<i>Neisseria sicca</i>	ATCC	5415	No detectado
104	<i>Neisseria subflava</i>	ATCC	49275	No detectado
105	<i>Prevotella bivia</i>	KCTC	5454	No detectado
106	<i>Prevotella buccalis</i>	KCTC	5496	No detectado
107	<i>Prevotella disiens</i>	KCTC	5499	No detectado
108	<i>Prevotella intermedia</i>	KCTC	3692	No detectado
109	<i>Prevotella melaninogenica</i>	KCTC	5457	No detectado
110	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	47085	No detectado
111	Putative BVAB2	Korean isolate		No detectado
112	Putative Megasphaera type-1	Korean isolate		No detectado
113	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	KCCM	50511	No detectado
114	<i>Salmonella enteritidis</i>	KCCM	12021	No detectado
115	<i>Salmonella typhimurium</i>	KCCM	40253	No detectado
116	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	700699D-5	No detectado
117	<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC	BAA-611D	No detectado
118	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC	BAA-255D	No detectado
119	<i>Trichomonas vaginalis</i>	ATCC	30001D	No detectado
120	<i>Ureaplasma parvum</i>	ATCC	27815	No detectado
121	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	ATCC	33695	No detectado
122	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC	27969	No detectado

* **LGV (Lymphogranuloma venereum, *Chlamydia trachomatis* serovar L)**

† Para demostrar la disponibilidad de los resultados, el experimento se repitió tres veces.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- ※ ATCC: American Type Culture Collection
- KCTC: Korean Collection for Type Culture
- KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
- NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control
- Vircell: Vircell microbiologists
- Advanced : Advanced Biotechnologies Inc.

2. Sensibilidad

Para determinar la sensibilidad de Allplex™ Genital ulcer Assay, se configuró una dilución en serie estándar de DNA clonado objetivo desde 10^4 a 10^0 copias/reacción y se analizó con Allplex™ Genital ulcer Assay. El límite de detección para el Allplex™ Genital ulcer Assay fue 100 copias/reacción.

3. Reproducibilidad

Los test de reproducibilidad se llevaron a cabo en 2 momentos distintos a lo largo de 5 días, con 3 investigadores diferentes, 3 lotes de productos diferentes y 3 sitios diferentes. Se obtuvieron los mismos resultados en cada test, lo que confirma la reproducibilidad del Allplex™ Genital ulcer Assay.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se llevó a cabo usando sustancias interferentes compuestas por 5 sustancias para confirmar el rendimiento de Allplex™ Genital ulcer Assay en la presencia de potenciales sustancias interferentes. El resultado no se vio afectado al añadir las sustancias: ni detección no específica ni inhibición en la amplificación objetiva. Teniendo en cuenta los resultados, las 5 sustancias interferentes no afectaron los resultados de Allplex™ Genital ulcer Assay.

Núm	Sustancias interferentes	Concentración
1	Human whole blood	0%, 2,5%, 5%
2	Albumin	0%, 2,5%, 5%
3	Bilirubin	0 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL
4	pH	pH4, pH7, pH9
5	Mucus	-

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

5. Estudio clínico

Un total de 100 especímenes clínicos fueron sometido a una prueba con Allplex™ Genital ulcer Assay y aun ensayo de referencia.

La tasa de concordancia del HSV-1, HSV-2, TP y CMV debería ser más de 90%. Esta prueba comparativa mostró una tasa de concordancia de 92,9% entre las muestras clínicas examinadas con Allplex™ Genital ulcer Assay y las de la prueba de referencia. De este modo queda confirmado que la calidad de Allplex™ Genital ulcer Assay es válida.

Analito	Sensibilidad (en comparación con el ensayo de referencia)			Especificidad (en comparación con el ensayo de referencia)			Precisión		
	TP/ (TP+FN)	% ^{a)}	95% CI ^{c)}	TN/ (TN+FP)	% ^{b)}	95% CI ^{c)}	(TP+TN)/ Total	% ^{d)}	95% CI ^{c)}
Herpes simplex virus type 1 (HSV-1)	2/2	100,0	15,8~100,0	69/69	100,0	94,8~100,0	71/71	100,0	94,9~100,0
Herpes simplex virus type 2 (HSV-2)	11/11	100,0	71,51~100,0	60/60	100,0	94,0~100,0	71/71	100,0	94,9~100,0
<i>Treponema pallidum</i> (TP)	-	-	-	71/71	100,0	94,94~100,0	71/71	100,0	94,9~100,0
<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	16/21	76,2	52,83~91,8	62/63	98,4	91,5~100,0	78/84	92,9	85,1~97,3

a) Sensibilidad: $100 \times TP / (TP + FN)$

b) Especificidad: $100 \times TN / (FP + TN)$

c) Se calcularon los intervalos de confianza del 95% a ambos lados.

d) Precisión: $100 \times (TP + TN) / (TP + TN + FP + FN)$

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REFERENCIAS

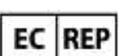
1. A. I. Gouveia, J. Borges-Costa, L. Soares-Almeida, M. Sacramento-Marques and H. Kutzner. [Herpes simplex virus and cytomegalovirus co-infection presenting as exuberant genital ulcer in a woman infected with human immunodeficiency virus] *Clin Exp Dermatol.* (2014) 39(8): 915-917
2. C Birch, J Druce, M Catton, L MacGregor, and T Read. [Detection of varicella zoster virus in genital specimens using a multiplex polymerase chain reaction] *Sex Transm Infect.* (2003) 79(4): 298–300
3. Christiane Maria Moreira Gomes, Paulo César Giraldo, Francis de Assis Moraes Gomes, Rose Amaral, Mauro Romero Leal Passos and Ana Katherine da Silveira Gonçalves. [Genital Ulcers in Women: Clinical, Microbiologic and Histopathologic Characteristics] *BJID.* (2007) 11(2): 254-260
4. Christopher J. McIver, Nikolas Rismanto, Catherine Smith, Zin Wai Naing, Ben Rayner, Josephine Lusk, Pamela Konecny, Peter A. White, William D. Rawlinson. [Multiplex PCR testing detected higher than expected rates of cervical Mycoplasmas, Ureaplasmas, Trichomonas and viral agents in sexually active Australian women.] *JCM.* (2009) 47(5): 1358-1363
5. D. H. Lee. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] *Seegene Bulletin* (2012) 1: 5-10
6. Gopalan V, Nair RG, Pillai S, Oberholzer T. [Genital herpes zoster as a consequence of cancer chemotherapy-induced immunosuppression: report of a case.] *J Infect Chemother* (2012) 18(6):955-957
7. JASON SCHOENFELD, SARAH CANNON, KRISTIN CAM, MATTHEW KELLER. [Cutaneous Co-infected Cytomegalovirus and Herpes Simplex Virus Perigenital Ulcers in Human Immunodeficiency Virus Patients] *J Clin Aesthet Dermatol.* (2013) 6(10): 41–43
8. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] *Seegene Bulletin.* (2012) 1: 1-4
9. KARINA A. and ORLE. [Simultaneous PCR Detection of Haemophilus ducreyi, Treponema pallidum, and Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 from Genital Ulcers.] *JCM.* (1996) 34(1): 49–54
10. Magnus Unemo, Ronald Ballard, Catherine Ison, David Lewis, Francis Ndowa, Rosanna Peeling. [Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus] *World Health Organization.* (2013)
11. Richard P. DiCarlo and David H. Martin. [The Clinical Diagnosis of Genital Ulcer Disease in Men] *CID.* (1997) 25:292–298
12. Sewell CA and Anderson JR. [Cytomegalovirus disease in the lower female genital tract.] *AIDS Patient Care STDS.* (2001) 15(9): 459-462
13. Y. J. Lee, D. Kim, K. Lee, and J. Y. Chun. [Single-channel multiplexing without melting curve analysis in real-time PCR] *Scientific Reports* (2014) 4:7439

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SÍMBOLOS

Clave sobre los símbolos que se han usado en el manual y las etiquetas

Símbolo	Explicación
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Número de catálogo
	Utilizar por fecha
	Límite superior de temperatura
	Mezcla de oligonucleotidos para amplificación y detección
	PCR master mix o Detection Mix
	RNase-free Water
	Control Positivo (PC)
	Control Interno (IC)
	Consulte las instrucciones de uso
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Precaución
	Contiene suficiente para <n> test
	Identificador único del dispositivo

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN DE PEDIDO

Núm. Cat.	Producto	Tamaño
Allplex™ series		
SD10177Z	Allplex™ Genital ulcer Assay	25 rxns*
SD9802Y	Allplex™ Genital ulcer Assay	50 rxns
SD9802X	Allplex™ Genital ulcer Assay	100 rxns*
SD9801Y	Allplex™ STI Essential Assay	50 rxns
SD9801X	Allplex™ STI Essential Assay	100 rxns*
SD10178Z	Allplex™ Candidiasis Assay	25 rxns*
SD9803Y	Allplex™ Candidiasis Assay	50 rxns
SD9803X	Allplex™ Candidiasis Assay	100 rxns*
SD9804X	Allplex™ Bacterial Vaginosis Assay	100 rxns
SD10159X	Allplex™ Bacterial Vaginosis <i>plus</i> Assay	100 rxns
SD9400Y	Allplex™ CT/NG/MG/TV Assay	50 rxns
SD9400X	Allplex™ CT/NG/MG/TV Assay	100 rxns*
SD10169Y	Allplex™ MG & AziR Assay	50 rxns
SD10170X	Allplex™ MG & AziR Assay	100 rxns*

* Para usar solo con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet.

Anyplex™ series		
SD7700Y	Anyplex™ II STI-7 Detection (V1.1)	50 rxns
SD7700X	Anyplex™ II STI-7 Detection (V1.1)	100 rxns*
SD7500Y	Anyplex™ II STI-5 Detection	50 rxns
SD7500X	Anyplex™ II STI-5 Detection	100 rxns*
SD7701Y	Anyplex™ II STI-7e Detection	50 rxns
SD7701X	Anyplex™ II STI-7e Detection	100 rxns*
SD7200Y	Anyplex™ CT/NG Real-time Detection (V3.1)	50 rxns**

* Para usar solo con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet.

** En el caso de SmartCycler® II System, se reduce el número total de rxn (50 rxns → 40 rxns)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Seeplex® series

HS6200Y	Seeplex® HSV2 ACE Detection	50 rxns
SD6401Y	Seeplex® STD4D ACE Detection (V2.0)	50 rxns
SD6600Y	Seeplex® STD6 ACE Detection (V2.0)	50 rxns
SD6511Y	Seeplex® STI Master Panel 1 (V2.0)	50 rxns

Productos accesorios

SG1701	Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	50 preps
--------	--	----------

Sistemas de extracción automatizada

65415-02	Microlab NIMBUS IVD	EA
173000-075	Microlab STARlet IVD	EA
65415-03	Seegene NIMBUS	EA
67930-03	Seegene STARlet	EA
744300.4.UC384	STARMag 96 X 4 Universal Cartridge kit	384T / 1box
SGprep32-180701	SGprep32	EA
EX00003P	STARMag 96 UniPlate	96T / 1box
EX00004T	STARMag 96 UniTube	96T / 1box
SG71100	SEEPREP32	EA
EX00009P	STARMag 96 ProPrep (Plate Type)	96T / 1box
EX00009T	STARMag 96 ProPrep (Tube Type)	96T / 1box

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ROTULOS

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD9802X) x 100 determinaciones

Rótulos Externos



Allplex™



Genital
ulcer Assay

(01) 08809240098026 (11) 200901
(17) 210930 (10) SD9320I01 (21) 0100

REF SD9802X Σ 100

LOT SD9320I01



2021-09-30



2020-09-01

EC REP

MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, D-66386
St. Ingbert, Germany



Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu,
Seoul, Republic of Korea, 05548

Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul,
Republic of Korea, 05548
TEL : +82-2-2240-4000 / FAX : +82-2-2240-4040
E-mail : info@seegene.com
www.seegene.com



Allplex™

Genital ulcer Assay

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN17503

Producto para Diagnostico uso "In Vitro"

"USO PROFECIONAL EXCLUSIVO-VENTA A LABORATORIOS DE ANALISIS CLINICOS

"PRODUCTO INSCRIPTO EN EL CONTEXTO A LA EMERGENCIA SANITARIA POR COVID-19"

Autorizado por ANMAT:

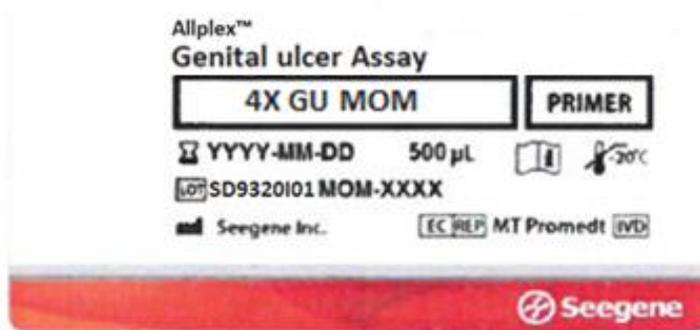
PM-626-175

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico -
M.N. 17503

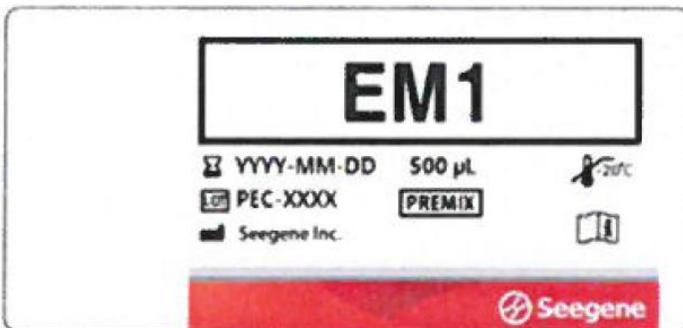
Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos:

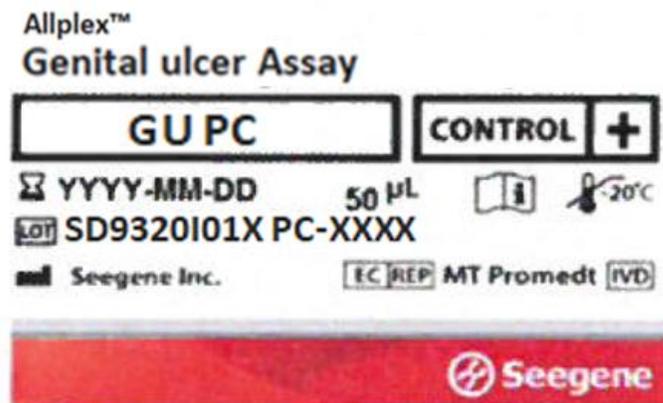
1) 4X GU MOM



2) EM1



3) GU PC



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) ASTI IC

Allplex™

Genital ulcer Assay

ASTI IC **CONTROL IC**

⌚ YYYY-MM-DD 1.000 µL ⓘ ⚡ -20°C

📦 LOT RPVY IC-XXXX

🏢 Seegene Inc.

EC REP MT Promedt IVD



5) RNase-free Water

RNase-free Water **WATER**

⌚ YYYY-MM-DD 1 mL ⚡ -20°C

📦 LOT RW-XXXX

🏢 Seegene Inc.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico -
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

**Allplex™ Genital ulcer Assay (SD9802Y) x 50 determinaciones:
Rótulos Externos**



Allplex™



**Genital
ulcer Assay**

(01) 08809240098022 (11) 200901
(17) 210930 (10) SD9420101 (21) 0100

REF SD9802Y Σ 50

LOT SD9420101



2021-09-30



2020-09-01



EC REP

MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, D-66386
St. Ingbert, Germany



Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu,
Seoul, Republic of Korea, 05548

Seegene Inc.

Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul,
Republic of Korea, 05548
TEL : +82-2-2240-4000 / FAX : +82-2-2240-4040
E-mail : info@seegene.com
www.seegene.com



Allplex™

Genital ulcer Assay

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN17503

Producto para Diagnostico uso "In Vitro"

"USO PROFECIONAL EXCLUSIVO-VENTA A LABORATORIOS DE ANALISIS CLINICOS

"PRODUCTO INSCRIPTO EN EL CONTEXTO A LA EMERGENCIA SANITARIA POR COVID-19"

Autorizado por ANMAT:

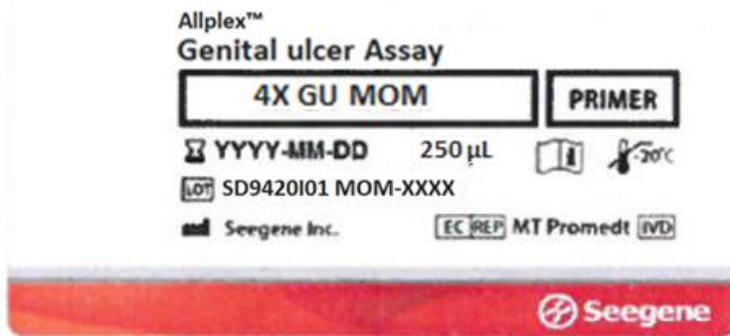
PM-626-175

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

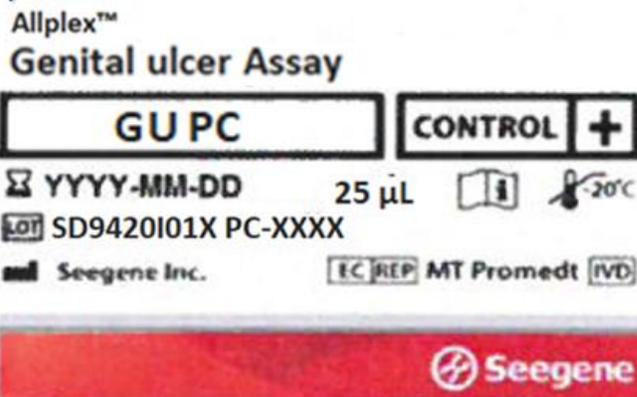
1) 4X GU MOM



2) EM1



3) GU PC



4) ASTI IC

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

Genital ulcer Assay

ASTI IC		CONTROL	IC
📅 YYYY-MM-DD	500 µL	📖 i	🧊 -20°C
📦 LOT RPVY IC-XXXX			
🏢 Seegene Inc.	EC REP	MT Promedt	IVD



5) RNase-free Water

RNase-free Water		WATER
📅 YYYY-MM-DD	1 mL	🧊 -20°C
📦 LOT RW-XXXX		📖 i
🏢 Seegene Inc.		



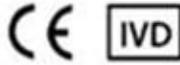
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico -
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD10177Z) x 25 determinaciones:
Rótulos Externos



Allplex™



Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu,
Seoul, Republic of Korea, 05548

**Genital
ulcer Assay**

(01) 08809240101773 (11) 200901
(17) 210930 (10) SD9804 (21) 0100

REF SD10177Z Σ 25

LOT SD9804



2021-09-30



2020-09-01

EC REP

MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, D-66386
St. Ingbert, Germany

Seegene Inc.

Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul,
Republic of Korea, 05548
TEL : +82-2-2240-4000 / FAX : +82-2-2240-4040
E-mail : info@seegene.com
www.seegene.com



Allplex™

Genital ulcer Assay

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN17503

Producto para Diagnostico uso "In Vitro"

"USO PROFECIONAL EXCLUSIVO-VENTA A LABORATORIOS DE ANALISIS CLINICOS

"PRODUCTO INSCRIPTO EN EL CONTEXTO A LA EMERGENCIA SANITARIA POR COVID-19"

Autorizado por ANMAT:

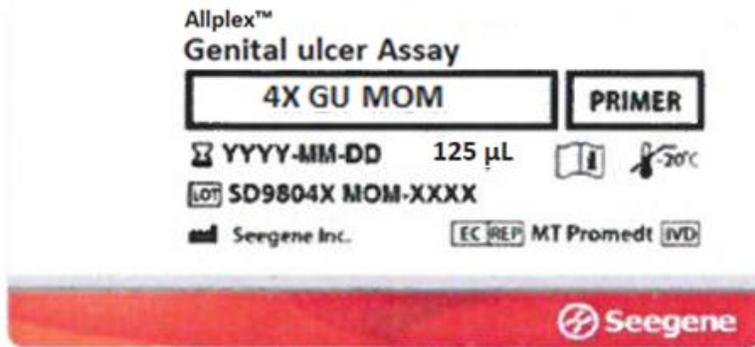
PM-626-175

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

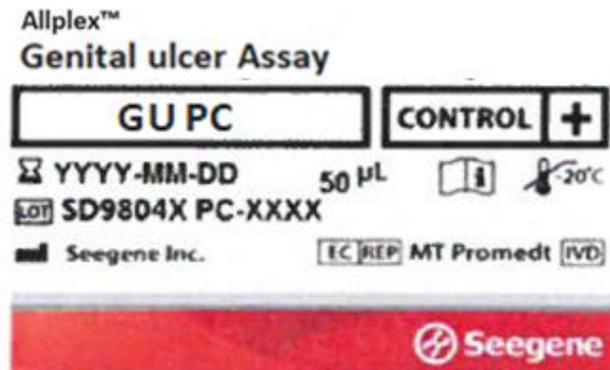
1) 4X GU MOM



2) EM1



3) GU PC



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) ASTI IC

Allplex™

Genital ulcer Assay

ASTI IC **CONTROL IC**

⌚ YYYY-MM-DD 250 µL ⓘ ⚡ -20°C

📦 LOT RPVY IC-XXXX

🏢 Seegene Inc.

EC REP MT Promedt IVD



5) RNase-free Water

RNase-free Water **WATER**

⌚ YYYY-MM-DD 1 mL ⚡ -20°C

📦 LOT RW-XXXX

🏢 Seegene Inc.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: BIOSYSTEMS S.A. rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 114 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.11.23 07:32:29 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.11.23 07:32:30 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-006033-22-0

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

Expediente N° 1-0047-3110-006033-22-0

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Comercial: Allplex™ Genital ulcer Assay

Indicación/es de uso:

Allplex™ Genital ulcer Assay es una prueba in vitro cualitativa para la detección única o múltiple de Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), H. ducreyi (HD), Cytomegalovirus (CMV), Lymphogranuloma venereum (LGV, C. trachomatis Serovar L), T. pallidum (TP), y Varicella-zoster virus (VZV) a partir de muestras de orina, hisopo genital y citología en medio líquido por PCR en tiempo real.

Forma de presentación: Allplex™ Genital ulcer Assay (SD9802X) x 100 determinaciones:

- 1) 4X GU MOM (Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección) 1 x 500 μ L
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG); Buffer que contiene dNTPs) 1 x 500 μ L.
- 3) GU PC (Control Positivo (PC): Mezcla de patógeno y clones) 1 x 50 μ L.
- 4) ASTI IC (Control Interno (IC) de muestras de orina) 1 x 1.000 μ L
- 5) RNase-free Water (Calidad ultrapura, grado PCR) 1 x 1.000 μ L

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD9802Y) x 50 determinaciones:

- 1) 4X GU MOM (Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección) 1 x 250 μ L
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG); Buffer que contiene dNTPs) 1 x 250 μ L.
- 3) GU PC (Control Positivo (PC): Mezcla de patógeno y clones) 1 x 25 μ L.
- 4) ASTI IC (Control Interno (IC) de muestras de orina) 1 x 500 μ L
- 5) RNase-free Water (Calidad ultrapura, grado PCR) 1 x 1.000 μ L

Allplex™ Genital ulcer Assay (SD10177Z) x 25 determinaciones:

- 1) 4X GU MOM (Mezcla de oligos de MuDT (MOM): Reactivos de amplificación y detección) 1 x 125 μ L
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG); Buffer que contiene dNTPs) 1 x 125 μ L.
- 3) GU PC (Control Positivo (PC): Mezcla de patógeno y clones) 1 x 50 μ L.
- 4) ASTI IC (Control Interno (IC) de muestras de orina) 1 x 250 μ L
- 5) RNase-free Water (Calidad ultrapura, grado PCR) 1 x 1.000 μ L

Período de vida útil: Este producto tiene estabilidad para usarse durante 12 meses, conservado a (-20°C).

Nombre del fabricante:

Seegene Inc.

Lugar de elaboración:

Seegene Inc. / Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul 05548, República de Corea.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 626-175 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-006033-22-0

N° Identificador Trámite: 41795

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica

Date: 2022.11.27 16:34:26 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica

Date: 2022.11.27 16:34:27 -03:00