



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
Las Malvinas son argentinas

**Disposición**

**Número:**

**Referencia:** EX-2022-14677726-APN-DGA#ANMAT

---

VISTO el N° EX-2022-14677726-APN-DGA#ANMAT del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOSYSTEMS S.A solicita autorización para la venta del Producto médico para diagnóstico *in vitro* denominado: **Anyplex II HPV HR Detection**.

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 en el expediente de referencia consta el informe técnico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia y corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico para diagnóstico *in vitro* objeto de la solicitud.

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

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- 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 *in vitro* denominado **Anyplex II HPV HR Detection** de acuerdo con lo solicitado por la firma BIOSYSTEMS S.A., con los Datos Identificatorios característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulos y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-49422219-APN-DFVGRM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM 626-163”, con exclusión de toda otra leyenda no autorizada y/o contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 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 a los nuevos productos. 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 COMERCIAL:** Anyplex II HPV HR Detection.

**INDICACIÓN DE USO:** El Anyplex™ II HPV HR Detection es un test cualitativo *in vitro* para la detección de 14 tipos de HPV de alto riesgo en muestras de citología en medio líquido e hisopos en el cérvix. Este ensayo identifica concretamente no solo HPV 16 y HPV 18, sino también otros 12 genotipos de HPV de alto riesgo individuales (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) a niveles de infección clínicamente relevantes.

**FORMA DE PRESENTACIÓN:** Anyplex II HPV HR detection (Ref. HP7E00X para 100 reacciones) - 4X HPV HR TOM (1 x 500ul) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección. - EM1 (1 X 500ul) ADN polimerasa; Uracil-DNA glicosilada (UDG): Tampón que contiene dNTPs. - HPV HR PC1 (1 x 50ul) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos. - HPV HR PC2 (1 x 50ul) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos. - HPV HR PC3 (1 x 50ul) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos. - RNasa-free Water (1 X 1000ul) Calidad ultrapura, grado PCR.

**PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN:** 13 meses conservado a -20°C.

**NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE:** Fabricado por Seegene Inc. Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu Seoul, 05548 Republic of Korea para MT Promedt Consulting GmbH Altenhofstrasse 80, 66386 St. Ingbert Germany.

**CATEGORÍA:** Uso profesional exclusivo

N° EX-2022-14677726-APN-DGA#ANMAT

AM

Digitally signed by GARAY Valeria Teresa  
Date: 2022.06.09 17:17:03 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.06.09 17:17:05 -03:00

ROTULOS "Anyplex II HPV HR Detection"

Rotulo Externo



Anyplex™ II



HPV HR Detection

(01) 08809240100349 (11) 180101  
(17) 190131 (10) HP5718A01 (21) 0077

REF HP7E00X



LOT HP5718A01



2019-01-31



2018-01-01



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



Anyplex™ II  
HPV HR Detection

(only for NIMBUS, STARlet)

Importado por:

**BioSystems S.A**

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL:(54-11)4854-7775

Directora Técnica: Eduardo Omar Miguez MN: 17503

Producto para diagnóstico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

Autorizado por ANMAT

PM: 626-163

Certificado N°:

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

## Rótulos Internos

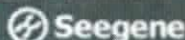
Anyplex™II  
HPV HR Detection

**4X HPV HR TOM** **PRIMER**

⌚ YYYY-MM-DD 500 µL ⓘ -20°C

**LOT** HP 7E00X20 TOM-XXXX

Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**

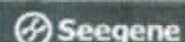
 Seegene

**EM 1**

⌚ YYYY-MM-DD 500 µL ⓘ -20°C

**LOT** PEC-XXXX **PREMIX** ⓘ

Seegene Inc.

 Seegene


Anyplex™II  
HPV HR Detection

**HPV HR PC 1** **CONTROL +**

⌚ YYYY-MM-DD 50 µL ⓘ -20°C

**LOT** HP 7E00X20 PC1-XXXX

Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**

 Seegene


Anyplex™II  
HPV HR Detection

**HPV HR PC 2** **CONTROL +**

⌚ YYYY-MM-DD 50 µL ⓘ -20°C

**LOT** HP 7E00X20 PC2-XXXX

Seegene Inc. **EC REP** MT Promedt **IVD**

 Seegene

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

  
Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

Anyplex™II

HPV HR Detection

HPV HR PC3


CONTROL +

⌚ YYYY-MM-DD 50 µL   -20°C

**LOT** HP7E00X20 PC3-XXXX

 Seegene Inc.

**EC REP** MT Promedt **IVD**

 Seegene

RNase-free Water


WATER

⌚ YYYY-MM-DD 1 mL  -20°C

**LOT** RWA-XXXX

 Seegene Inc.



 Seegene

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

  
Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**Anyplex™ II**

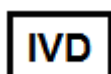
# **HPV HR Detection**

(Núm. Cat. HP7E00X)

Anyplex™ II PCR System para la detección del human papillomavirus - 14 tipos HPV de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) a partir de muestras de citología en medio líquido e hisopos en el cérvix.

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 Miguez  
BioSystems S.A.  
Director Técnico  
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**ÍNDICE**

AVISOS .....	3
USO PREVISTO .....	5
PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS .....	6
INFORMACIÓN GENERAL .....	8
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 .....	20
RESULTADOS .....	52
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS .....	57
RENDIMIENTO .....	59
REFERENCIAS .....	63
SÍMBOLOS .....	64
INFORMACIÓN DE PEDIDO .....	65

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

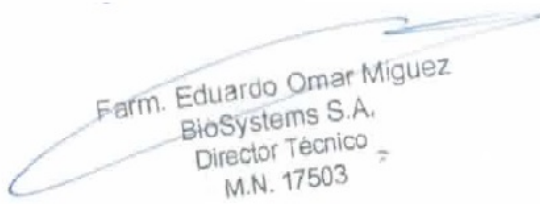
Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.



**AVISOS**

- Solo para diagnóstico *in vitro*.
- 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: muestras de hisopos en el cérvix y citología en medio líquido.** Este test no ha sido aprobado para ningún otro tipo de muestra.
- **Almacene las muestras de DNA a -70°C hasta que se vayan a usar y consérvelas en baño de hielo durante su uso.**
- La sensibilidad de un 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.
- La fiabilidad de los resultados depende de que las muestras sean adecuadamente recogidas, almacenadas, transportadas y procesadas.
- En todo momento deben usarse 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.
- Los suministros y equipos deben ser asignados a cada área de trabajo y no se deben intercambiar entre una y otra área.
- 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. Debe lavarse bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de la prueba.
- 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 y segregadas 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% (en agua desionizada o destilada). Los componentes del producto (residuos del producto, embalaje) se pueden considerar como 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 13 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;  
Human papillomaviruses



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



Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**USO PREVISTO**

El Anyplex™ II HPV HR Detection es un test cualitativo *in vitro* para la detección de 14 tipos de HPV de alto riesgo en muestras de citología en medio líquido e hisopos en el cérvix. Este ensayo identifica concretamente no solo HPV 16 y HPV 18, sino también otros 12 genotipos de HPV de alto riesgo individuales (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) a niveles de infección clínicamente relevantes.

El Anyplex™ II HPV HR Detection está indicado para:

- a) Examinar a los pacientes con los resultados de la citología cervical de ASC-US (células escamosas atípicas de indeterminada importancia) para determinar la necesidad de derivación a la colposcopia. Los resultados de este test no están destinados a evitar que las mujeres se realicen una colposcopia.
- b) Examinar a los pacientes con los resultados de la citología cervical de ASC-US para examinar la presencia o la ausencia de HPV 16, HPV 18 y otros 12 genotipos de HPV de alto riesgo individuales (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68).
- c) Usarse con citología cervical para examinar de manera complementaria la presencia o ausencia de HPV 16, HPV 18 y otros 12 genotipos de HPV de alto riesgo individuales (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68).
- d) Usarse como una prueba de selección primaria para identificar a las mujeres que tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer de cérvix o la presencia de enfermedad de alto riesgo.
- e) Usarse como un test de selección primario para examinar la presencia o ausencia de HPV 16, HPV 18 y otros 12 genotipos de HPV de alto riesgo individuales (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68).

El resultado obtenido de Anyplex™ II HPV HR Detection, junto con la valoración del médico del historial de citología, otros factores de riesgo y las directrices profesionales, pueden usarse para guiar la gestión del paciente.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

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

El Anyplex™ II HPV HR Detection presenta tecnología propiedad de Seegene y se basa en tecnología de TOCE™, que posibilita detectar múltiples patógenos en un único canal de fluorescencia en instrumentos PCR en tiempo real.

En el análisis actual de curvas de *melting*, se observan a menudo diferencias de temperatura entre los DNA que tienen alta variación de la secuencia, lo que plantea problemas en el campo del diagnóstico clínico donde los resultados de los test precisos y reproducibles son críticos. Sin embargo, la tecnología TOCE™ ha sido diseñada para que no le afecten las variaciones de secuencia, lo que garantiza valores Tm constantes.

El Anyplex™ II HPV HR Detection puede realizar un examen multiplex bien sea por el método End point-CMTA (CMTA-punto final) (End point-Catcher Melting Temperature Analysis) o cyclic CMTA (CMTA-cíclico) (cyclic-Catcher Melting Temperature Analysis). El método cyclic CMTA (CMTA-cíclico), que representa una nueva clase de test moleculares, puede discriminar los principales patógenos en las muestras coinfectadas. El Anyplex™ II HPV HR Detection es un ensayo PCR multiplex en tiempo real que permite la amplificación, detección y diferenciación simultánea de los ácidos nucleico objetivo de 14 tipos de HPV high-risk de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68), así como Control Interno (IC).

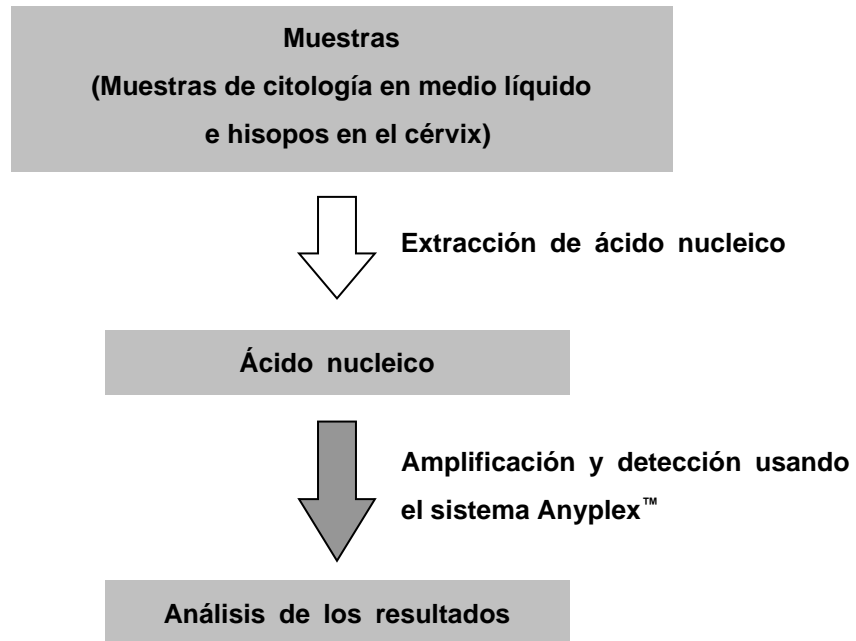
La eficiencia de la PCR se puede reducir mediante inhibidores que pueden estar presentes en las muestras clínicas. El IC se incorpora al producto como un control exógeno del conjunto del proceso para controlar el aislamiento del ácido nucleico y comprobar una posible inhibición de PCR. El IC es coamplificado con ácidos nucleicos objetivo dentro de las muestras clínicas. El Anyplex™ II HPV HR Detection usa un gen humano doméstico como un IC endógeno que puede garantizar la purificación de DNA, la verificación de la reacción de PCR y la clarificación de la adecuación de células a partir de cada muestra.

El sistema de Uracil-DNA glicosilasa (UDG)-dUTP se emplea en Anyplex™ II HPV HR Detection. El sistema UDG-dUTP se usa comúnmente al llevar a cabo PCR para eliminar los amplicones sobrantes usando escisiones por UDG de residuos de uracilo desde DNA clivando el enlace N-glicosílicos.

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. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**INFORMACIÓN GENERAL**

La infección del virus del papiloma humano (HPV) está relacionada con el cáncer de cérvix. El HPV puede dividirse en grupos de “alto riesgo (HR)” y de “bajo riesgo (LR)” según su asociación con las lesiones del cérvix.

Por lo tanto, es muy importante saber qué tipo de HPV se infecta en los pacientes para prevenir el desarrollo del cáncer y la transmisión de la enfermedad. Actualmente, los principales productos disponibles comercialmente para diagnosticar el HPV se basan en un método de sonda de hibridización para detectar el genotipo de HPV. Sin embargo, el principal defecto de los métodos basados en la sonda de hibridización es la alta tasa de falsos positivos debido a la reactividad cruzada entre las pruebas y diversos tipos de DNA viral o amplicones de PCR usados para la hibridización. Aquí presentamos un sistema de ensayos innovador para la detección y genotipación de HPV, que amplifica solo los objetivos específicos sin ninguna reactividad cruzada y está automatizado en la detección a través de un método de PCR en tiempo real. Finalmente el Anyplex™ II HPV HR Detection solo detecta concretamente verdaderos HPV y los genotipa adecuadamente. También contiene Control Interno endógeno para comprobar cualquier inhibición que puede tener lugar durante la reacción de PCR.

El cáncer de cérvix, que avanza desde la fase precancerosa hasta la invasiva, tienen de 7~ 20 años de fase precancerosa; por tanto, es posible realizar un diagnóstico precoz cuando se sospecha que hay infección de HPV. Los grupos de alto riesgo de padecer HPV pueden acabar desarrollando cáncer de cérvix; especialmente, los HPV16 y 18 están asociados con el 70% de los casos de cáncer cervical. Con Anyplex™ II HPV HR Detection, se pueden identificar 14 tipos de HPV de alto riesgo, entre los que se incluyen HPV16 y 18 al mismo tiempo.


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** HP7E00X).

<b>Anyplex™ II HPV HR Detection</b>			
<b>Símbolos</b>	<b>Contenido</b>	<b>Volumen</b>	<b>Descripción</b>
<b>PRIMER</b>	4X HPV HR TOM	500 µL	Mezcla de oligos de TOCE (TOM): - Reactivos de amplificación y detección
<b>PREMIX</b>	EM1	500 µL	- Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs
<b>CONTROL +</b>	HPV HR PC1	50 µL	Control Positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones
<b>CONTROL +</b>	HPV HR PC2	50 µL	Control Positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones
<b>CONTROL +</b>	HPV HR PC3	50 µL	Control Positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones
<b>WATER</b>	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.

## ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Anyplex™ II HPV HR Detection deben almacenarse a  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ . Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas hasta la fecha de caducidad que se indica en la etiqueta. El rendimiento de los componentes del kit no se ve afectado hasta 5 congelaciones y descongelaciones. Si se van a utilizar los reactivos solo de forma intermitente, deben congelarse en partes alícuotas.

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

- Guantes desechables sin talco (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubo de microcentrifugación de 1,5 mL
- Kit de extracción de ácido nucleico (véase Extracción de Ácido Nucleico)
- Proteinasa K (para SEEPREP12™, Núm. Cat. P4850, SIGMA)
- Productor de hielo
- Centrifugadora de sobremesa
- Mezclador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- Tiras de 8 tapas planas ópticas (Núm. Cat. TCS0803, Bio-Rad)
- Tiras de 8 tubos de perfil bajo de 0,2 mL sin tapas (color blanco, Núm. Cat. TLS0851, 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)
- Vial Cap Management System (Núm. Cat. 6600532-01, Hamilton)
- Sello de calor permanente y transparente (Núm. Cat. 1814035, Bio-Rad)\*
- Sellador de placas PX1 PCR (sellador automático, Núm. Cat. 181-4000, Bio-Rad)\*
- Mesa de trabajo limpia

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

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

Dra. MARIANA 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.

**Muestras de citología en medio líquido****Muestras de hisopos en el cérvix**

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

**A. Recogida de muestras****Muestras de citología en medio líquido**

- Siga las instrucciones del fabricante para recoger las muestras de células del cérvix en los medios ThinPrep® (HOLOGIC, USA) o SurePath™ (Becton-Dickinson, USA) o CellPreserv (Kolplast, Brazil).

**Muestras de hisopos en el cérvix**

Para recoger los hisopos en el cérvix, use los siguiente materiales:

- Los hisopos en el cérvix se pueden recoger y transportar en los siguientes medios:
  - eNAT™ (COPAN, Italia)

<b>Kit de recogida de muestras del cérvix</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Núm. Cat.</b>
ENAT PM 2ML L-SHAPE APPLICATOR (APLICADOR EN FORMA DE L ENAT PM 2ML)	COPAN	606CS01L

- 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

Dr. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**B. Almacenamiento y transporte de muestras**

Muestra	Medio	Almacenamiento y transporte		Nota
		Temp.	Duración*	
hisopo en el cérvix	eNAT™	2~8°C** & Temperatura a ambiente**	90 días	- El rendimiento puede verse afectado por el almacenamiento prolongado de las muestras. - Las muestras también deben adherirse a las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno.
citología en medio líquido	ThinPrep®			
	SurePath™			
	CellPreserv			

\* Duración: Muestra recogida antes de la realización de la prueba, que incluye el almacenamiento y el transporte de las muestras antes de la realización del test.

\*\* La temperatura óptima para el transporte es 2-25°C.

**2. Extracción de ácido nucleico**

Varios fabricantes ofrecen kits de extracción de ácido nucleico. Utilice la cantidad correcta de la muestra según el protocolo de uso. Se han validado los siguientes kits de extracción para usar con este kit.

**A. Tratamiento previo de las muestras de citología en medio líquido**

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19~25°C).
- Centrifugue 1 mL de muestra de citología en medio líquido durante 15 minutos a 15.000 x g (13.000 rpm).
- Hay que descartar el sobrenadante. A continuación, se debe volver a suspender el volumen recomendado (200~450 µL, véase volumen recomendado de 2-C, D) en 1X PBS agitándolo bien en un mezclador de vórtice para volver a disolverlo.

**Nota:** Proceda al paso de pretratamiento usando el tampón de lisis en el kit de extracción y no el 1X PBS 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.

**Nota:** El medio ThinPrep® e SurePath™ puede procesarse sin tratamiento previo al usar Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet.

**Nota:** CellPreserv no requiere un paso previo al tratamiento.

**Nota:** SurePath™ e CellPreserv no han sido validados con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

**Nota:** CellPreserv no ha sido validado con STARMag 96 ProPrep C (Plate Type) e STARMag 96 ProPrep C (Tube Type).

- Siga el protocolo del fabricante.

Farm. Eduar Miguel  
BioSystems S.A.  
Director Técnico  
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**B. Muestra de hisopo en el cérvix**

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19~25°C).
- Las muestras de hisopos en el cérvix que contienen un hisopo en el medio de transporte deben agitarse mediante un mezclador de vórtice.
- Las tapas de los tubos de las muestras tienen que quitarse cuidadosamente para evitar contaminación. En este momento, debe eliminarse cualquier exceso de moco en la muestra recogiendo con el hisopo. Cualquier líquido residual del moco y del hisopo se debe extraer, por lo que se ha de presionar el hisopo contra la pared del tubo. Finalmente, deben quitarse el hisopo y el moco y descartarse.
- Las muestras de ENAT pueden procesarse directamente fuera del soporte primario.

**C. Kit de extracción de ácido nucleico manual**

**Nota:** Use la muestra recomendada y los volúmenes de la elución tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

Kit de extracción	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
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.

**D. Sistemas de extracción automatizada**

**Nota:** Use la muestra recomendada y los volúmenes de la elución 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.

**D-1. Microlab NIMBUS IVD**

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

Sistemas de extracción automatizada	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
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit**	Seegene	EX00013C	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

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

\*\* SurePath™ e CellPreserv no han sido validados con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

**D-2. Microlab STARlet IVD**

**Opción:** Sistema de preprocesamiento (Consulte el manual de funcionamiento de Vial Cap Management System)

Sistema de preprocesamiento automático	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Vial Cap Management System	Hamilton	6600532-01*	-

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

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

Sistemas de extracción automatizada	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
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit**	Seegene	EX00013C	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

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

\*\* SurePath™ e CellPreserv no han sido validados con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

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

Dr(a). MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**D-3. Seegene NIMBUS**

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

Sistemas de extracción automatizada	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
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit*	Seegene	EX00013C	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

\* SurePath™ e CellPreserv no han sido validados con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

**D-4. Seegene STARlet**

**Opción:** Sistema de preprocesamiento (Consulte el manual de funcionamiento de Vial Cap Management System)

Sistema de preprocesamiento automático	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
Vial Cap Management System	Hamilton	6600532-01*	-

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

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

Sistemas de extracción automatizada	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
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit*	Seegene	EX00013C	Muestra: 300 µL Elución: 100 µL

\* SurePath™ e CellPreserv no han sido validados con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**D-5. SEEPREP12™**

Sistemas de extracción automatizada	Fabricante	Núm. Cat.	Volumen recomendado
SEEPREP12™	DiaSorin	SPN1200*	-
SEEPREP12™ Viral NA Kit**	DiaSorin	SPN1004*	Muestra: 240 µL Elución: 60 µL

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

\*\* Las proteinasas K (20 mg/mL) no están incluidas en este kit

- Añada 10 µL de proteinasas K (20 mg/mL; comprar por separado) a cada tubo de muestra de 1,5 mL.
- Transferir 240 µL de muestras al tubo que contiene 10 µL de proteinasas K, y mézclelo sacudiendo el tubo con suavidad.
- En el instrumento están colocados el cartucho y la punta de bombeo montada.
- Coloque un tubo de elución de 1,5 mL en el instrumento.
- Pulse **“CONTINUE”** en la primera pantalla y deje que se inicie el instrumento.
- Pulse **“START PROTOCOL”** en el menú principal de SEEPREP12™.
- En el menú **Select Protocol**, pulse “SPN Viral NA-HT v.2.0”.
- En el menú **Select sample volume**, pulse **“250 µL”** y en el menú **Select elution volume**, pulse **“60 µL”**.
- Siga las instrucciones de la pantalla para cargar el instrumento.
- Después de completar todos los pasos, cierre la puerta e inicie el arranque.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**D-6. NucliSENS® easyMAG®**

- Proceda al proceso de extracción usando el **'generic protocol'**.

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

**D-7. SGprep32**

- Proceda al proceso de extracción usando el **'Uni-Protocol A'**.

Sistemas de extracción automatizada	Fabricante	Núm. Cat.	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

\* Por favor, utilice los números de catálogo mostrados anteriormente para la compra de productos a Seegene Inc.

**D-8. SEEPREP32**

- Proceda al proceso de extracción usando el **'Pro-Protocol A'**.

Sistemas de extracción automatizada	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
STARMag 96 ProPrep C (Plate Type)*	Seegene	EX00017P	Muestra: 200 µL Elución: 100 µL
STARMag 96 ProPrep C (Tube Type)*	Seegene	EX00017T	Muestra: 200 µL Elución: 100 µL

\* CellPreserv no ha sido validado con STARMag 96 ProPrep C (Plate Type) e STARMag 96 ProPrep C (Tube Type).

**E. Resumen**

Método de extracción	Dispositivo de muestreo aplicado
Microlab NIMBUS IVD / Microlab STARlet IVD Seegene NIMBUS / Seegene STARlet	ENAT, ThinPrep®, SurePath™ <sup>1,2</sup> , CellPreserv <sup>1</sup>
SEEPREP12™ <sup>3</sup>	ENAT, ThinPrep®, SurePath™
NucliSENS® easyMAG® <sup>4</sup>	ENAT, ThinPrep®, CellPreserv
QIAamp® DNA Mini Kit	ENAT, ThinPrep®, SurePath™ <sup>5</sup> , CellPreserv
Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	ENAT, ThinPrep®, CellPreserv
SGprep32	ENAT, ThinPrep®, CellPreserv
SEEPREP32	ENAT, ThinPrep®, CellPreserv <sup>6</sup>

1. SurePath™ e CellPreserv no han sido validados con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.
  2. Si se extrae DNA de las muestras de SurePath™ with Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet, hay una posibilidad de que la sensibilidad pueda reducirse en comparación con otros métodos de extracción.
  3. SEEPREP12™ Viral NA Kit
  4. NucliSENS® easyMAG system
  5. Procese la etapa de lisis utilizando 180 µL de tampón ATL en lugar de tampón AL para el medio SurePath™.
  6. CellPreserv no ha sido validado con STARMag 96 ProPrep C (Plate Type) e STARMag 96 ProPrep C (Tube Type).
- \* Opcional: Vial Cap Management System se puede usar con Microlab STARlet IVD y Seegene STARlet.

**3. Preparación de PCR en tiempo real**

**Nota: Al utilizar Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet para este paso, consulte cada manual de funcionamiento.**

**Nota: Deben usarse los tubos y tapas adecuadas (véase MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS).**

**Nota:** Deben usarse filtros resistentes a los aerosoles y guantes ajustados al preparar las muestras. Tenga especial cuidado para garantizar que no se produce 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 funcionamiento.**



**A. Prepare la Mastermix de PCR**

5 µL	4X HPV HR TOM
5 µL	EM1
5 µL	RNase-free Water
15 µL	Volumen total de reacción 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.** Utilice una parte proporcional de 15 µL de Mastermix de PCR en los tubos de PCR.

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

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

**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 cada HPV HR PC1, PC2 y PC3.

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

**Nota:** No marque la tapa de los tubos de reacción, ya que la fluorescencia se detecta a través de la tapa.

● **Control Positivo**

Hay tres tubos de Control Positivo incluidos en el kit; HPV HR PC1, PC2 y PC3.

Cada PC incluye clones para 5 objetivos.

**Nota:** Para iniciar la reacción de Control Positivo, prepare los tres tubos de PCR.

(Véase los resultados a continuación)

**Control positivo**

Name	FAM			HEX			Cal Red 610			Quasar 670			Quasar 705			Auto interpretation
	66	45	58	51	59	16	33	39	52	IC	35	18	56	68	31	
PC1	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	Positive Control (+)
PC2	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	Positive Control (+)
PC3	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	Positive Control (+)

## 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)**.

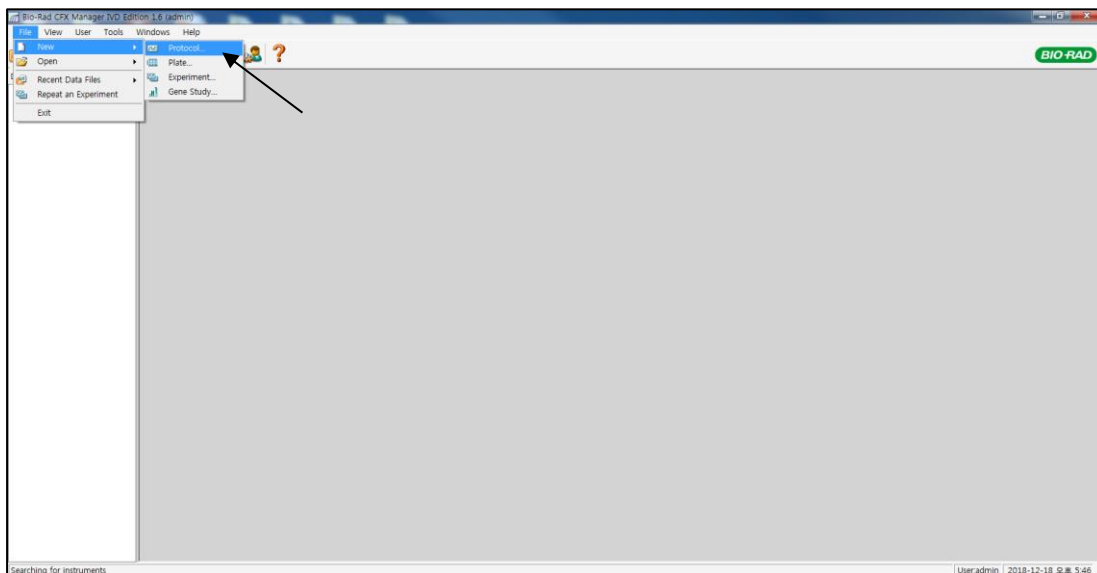


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

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

Dra. MARINA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

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

**i) cyclic CMTA (CMTA-cíclico (análisis Melt de tres veces))**

Paso	Temp	Duración	No. de ciclos
1	50°C	4 min	
2	95°C	15 min	
3	95°C	30 seg	30
4	60°C	1 min	
5	72°C	30 seg	
6	GOTO Paso 3, 29 veces más		
7	55°C	30 seg	
8*	Melting curve 55°C~85°C (5 s / 0,5°C)		
9	95°C	30 seg	10
10	60°C	1 min	
11	72°C	30 seg	
12	GOTO Paso 9, 9 veces más		
13	55°C	30 seg	
14*	Melting curve 55°C~85°C (5 s / 0,5°C)		10
15	95°C	30 seg	
16	60°C	1 min	
17	72°C	30 seg	
18	GOTO Paso 15, 9 veces más		
19	55°C	30 seg	
20*	Melting curve 55°C~85°C (5 s / 0,5°C)		

\* **Nota: Lectura de placa en el Paso 8, 14 y 20.** La fluorescencia se detecta a la temperatura Melting.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.

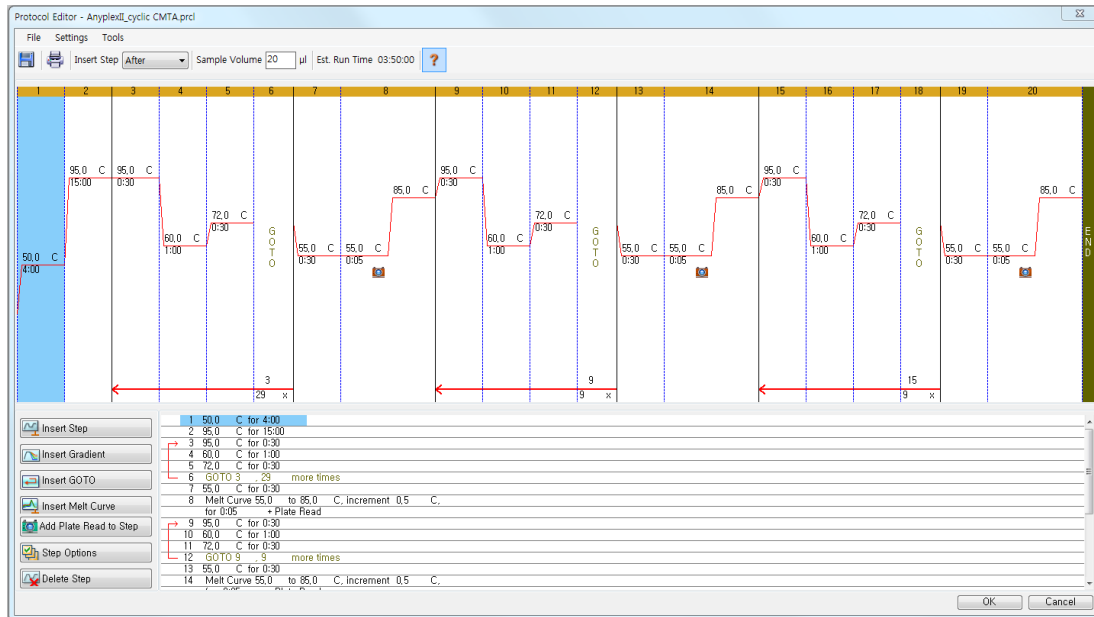
**ii) End point CMTA (CMTA-punto final (Análisis de Melt de una vez))**

Paso	Temp.	Duración	No. de ciclos
1	50°C	4 min	
2	95°C	15 min	
3	95°C	30 seg	50
4	60°C	1 min	
5	72°C	30 seg	
6	GOTO Paso 3, 49 veces más		
7	55°C	30 seg	
8*	Melting curve 55°C~85°C (5 s / 0,5°C)		

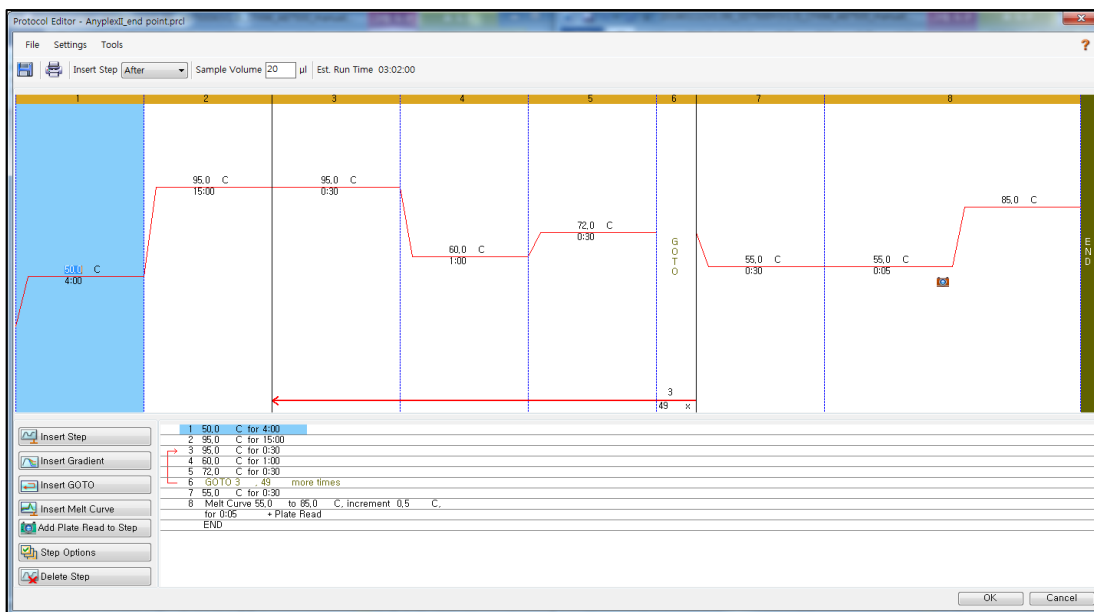
\* **Nota: Lectura de placa en el Paso 8.** La fluorescencia se detecta a la temperatura Melting.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.



**Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo) (cyclic-CMTA (CMTA-cíclico))**



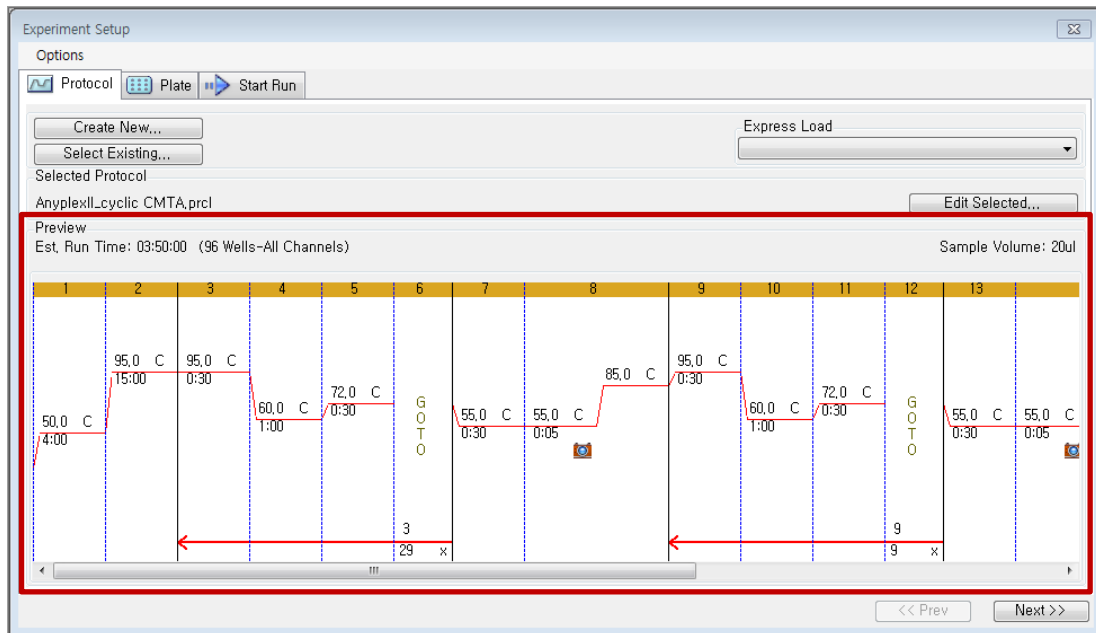
**Fig. 3. Protocol Editor (Editor de protocolo) (End point-CMTA (CMTA-punto final))**

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

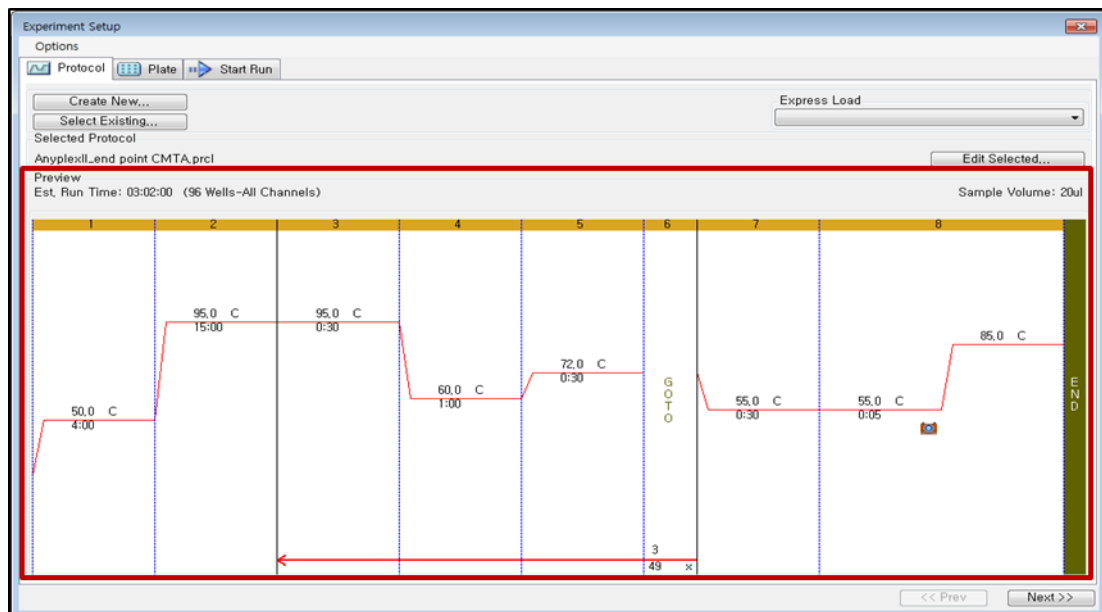
Farm. Eduardo Omar Miguez  
BioSystems S.A.  
Director Técnico  
M.N. 17503

Dra. MARIANA MILA 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. 4. Experiment Setup Protocol (Protocolo de configuración de experimentos)**  
(cyclic-CMTA (CMTA-cíclico))



**Fig. 5. Experiment Setup Protocol (Protocolo de configuración de experimentos)**  
(End point-CMTA (CMTA-punto final))

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

## 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)**.

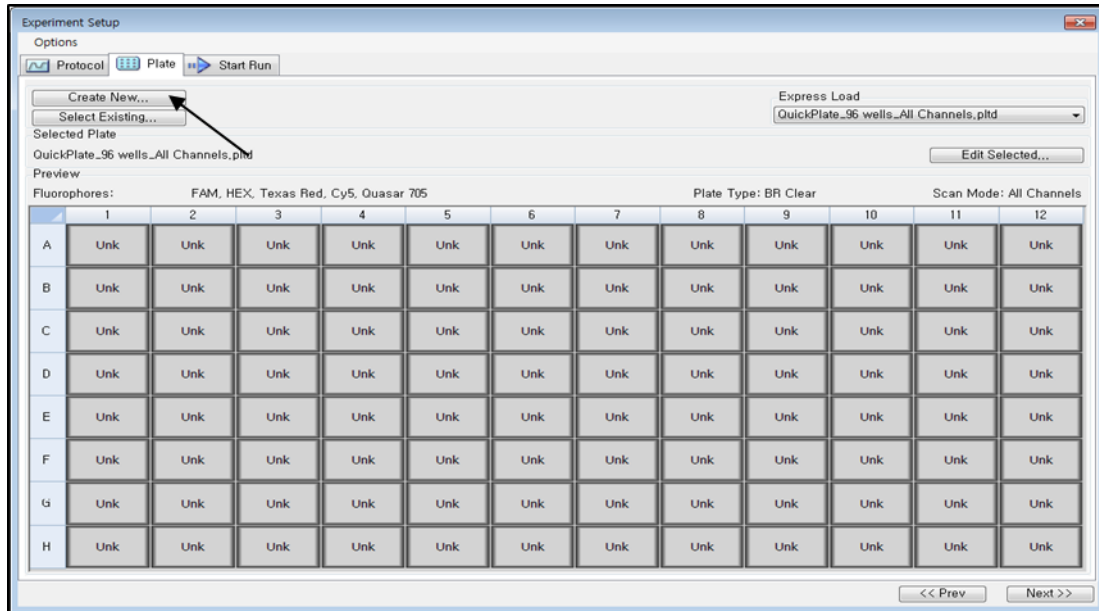


Fig. 6. Plate Editor (Editor de placa)

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

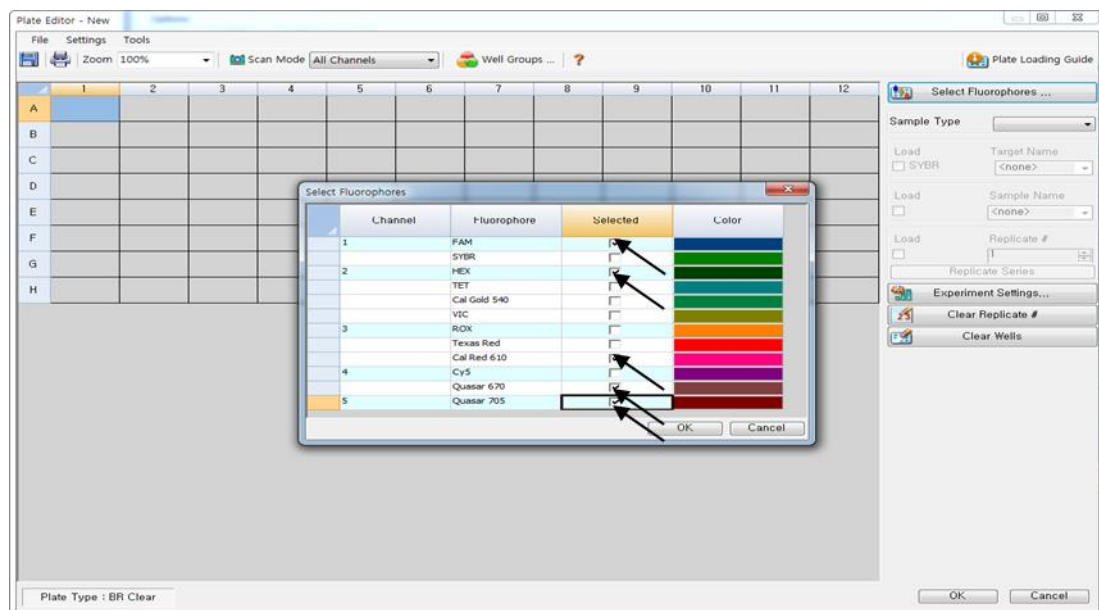


Fig. 7. Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos) (FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705)



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, Quasar 670 y Quasar 705**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y **PC (PC1, PC2, y PC3)**, y presione la tecla Intro.

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))**.

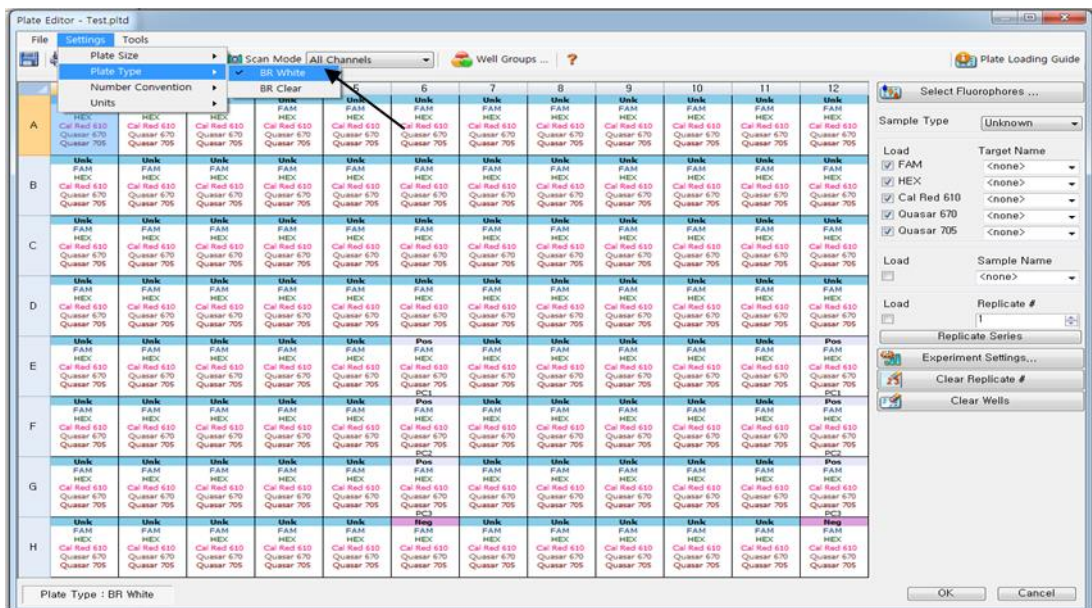
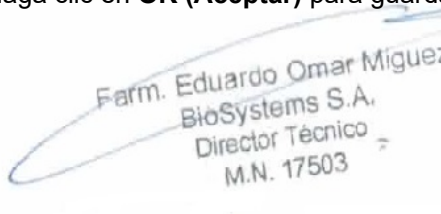



Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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


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


  
 Dra. MARIANA VILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.



8)

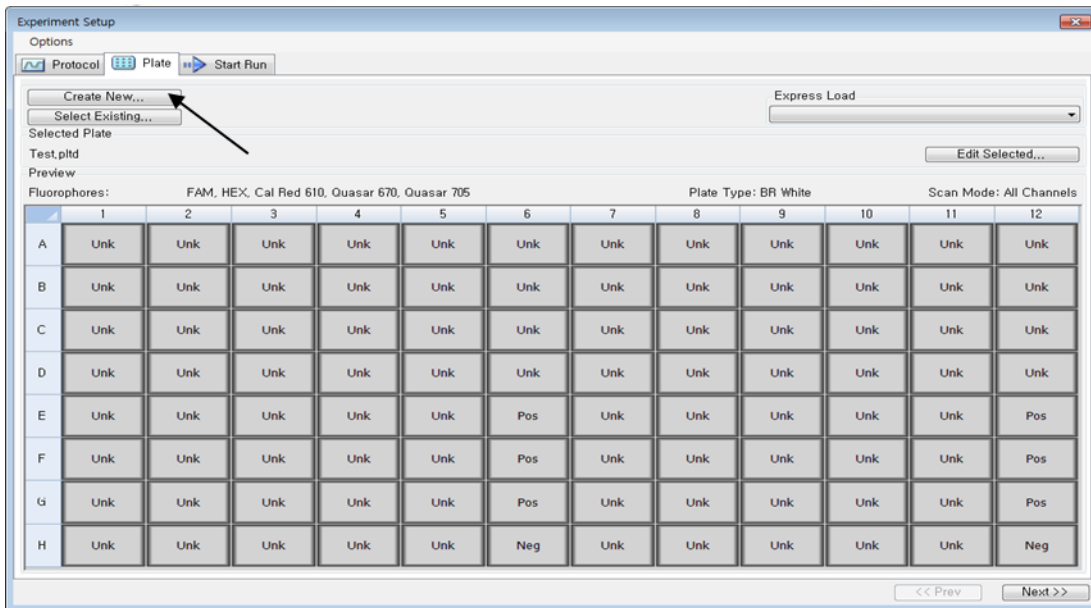


Fig. 9. Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiente)** para ir a 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.

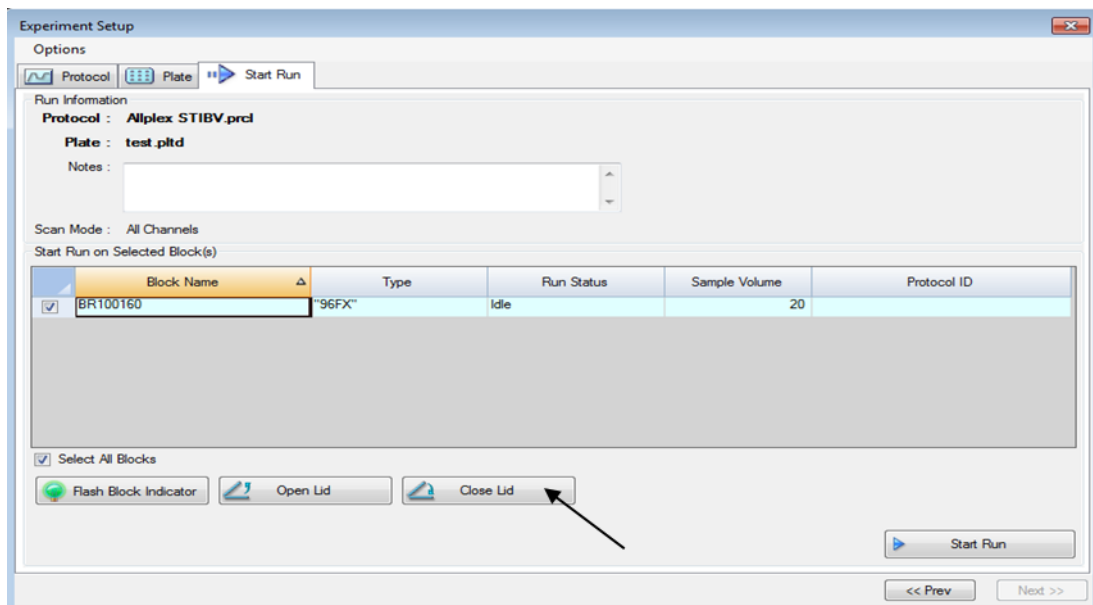


Fig. 10. Close Lid (Cerrar tapa)

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

#### A-1. cyclic-CMTA (CMTA-cíclico)

• Cuando se use la función 'Export All Data Sheet to excel' (Exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel) (véase página 29)

1) Para guardar los datos de cada paso de detección de la curva de fusión a partir del archivo de resultados, cree tres carpetas para cada uno: "1" para los datos del paso 8, "2" para los datos del paso 14 y "3" para los datos del paso 20.

• Cuando use la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene) (véase página 33)

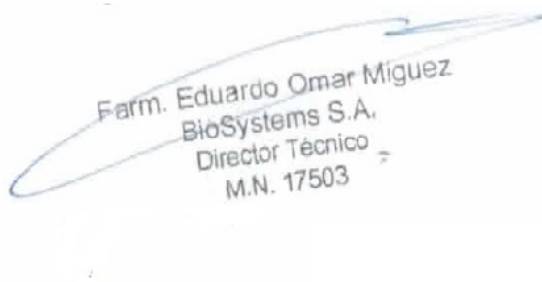
1) Para guardar los datos de todos los pasos de detección de la curva de fusión a partir del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El nombre de la carpeta puede ser el que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas MeltStep8, MeltStep14 y MeltStep20 para guardar los datos de los puntos de fusión en la carpeta que creó el usuario).

#### A-2. End point-CMTA (CMTA-punto final)

1) Para guardar los datos del punto de fusión del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El usuario puede configurar el nombre de la carpeta como desee.



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



Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**B. Configuración previa para el análisis de datos en CFX Manager™**
**B-1. Uso de la función ‘Export All Data Sheet to excel’ (exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel)**

1) Después del test, haga clic en la pestaña Curva de Fusión (Melt curve) para confirmar los resultados de Pico de Fusión (Melt Peak).

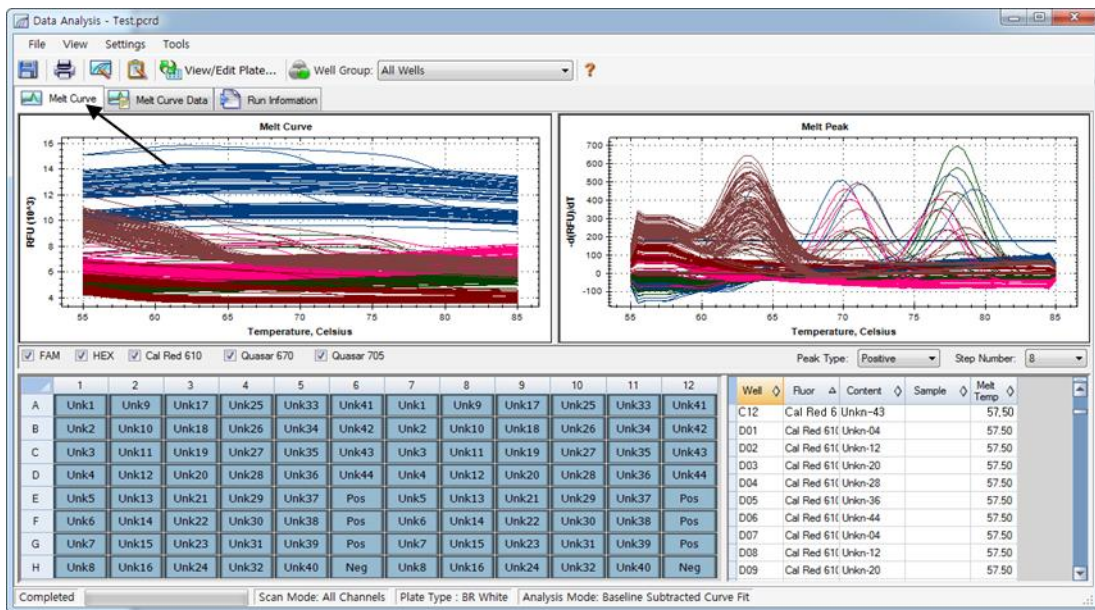


Fig. 11. Resultados Pico de Fusión (Melt Peak)

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

Dr(a). MARIANA VILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.

2) Seleccione “8” en Paso número y “Export All Data Sheets to Excel” (Exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel) en el menú Tools (Herramientas).

**Nota:** Seleccione “Export All Data Sheets to Excel” (Exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel) directamente en caso de End point-CMTA (CMTA-punto final).

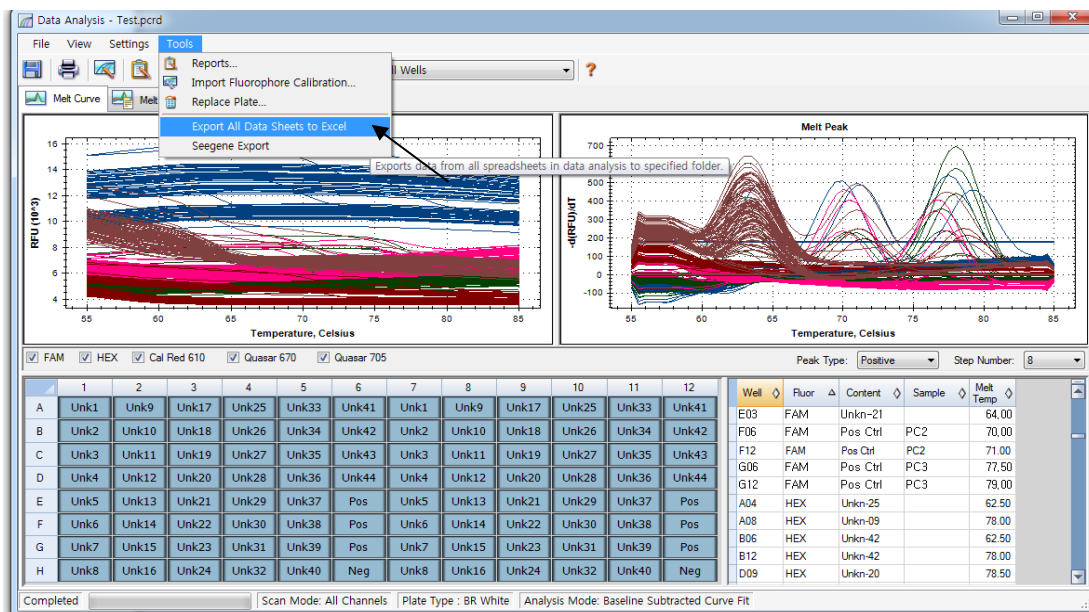
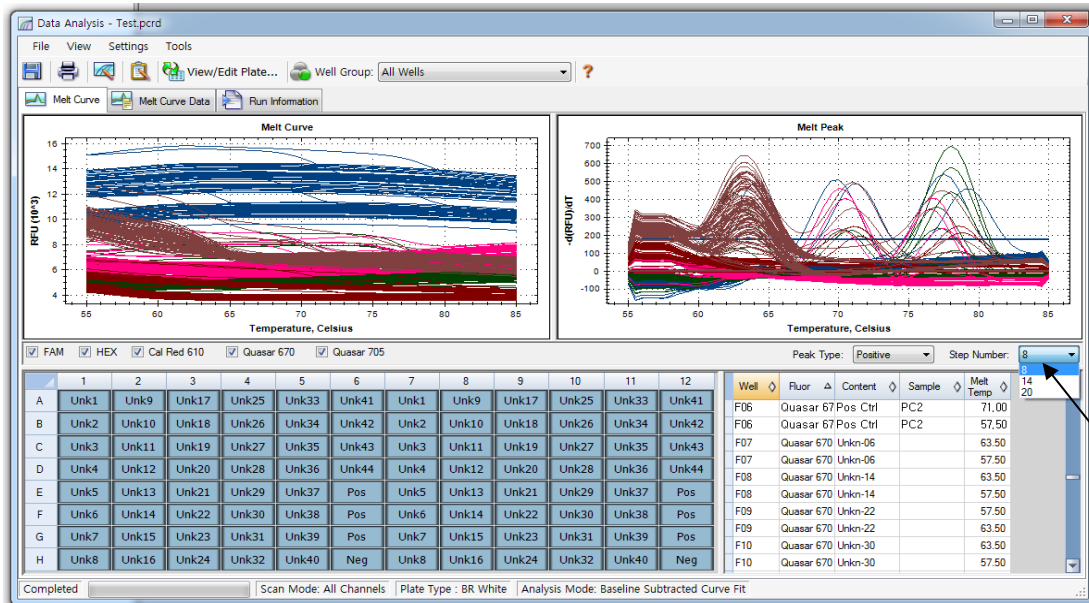


Fig. 12. Export All Data Sheets to Excel (Exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel)

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

3) Guarde el resultado en la carpeta especificada "1".

**Nota: En caso de End point-CMTA (CMTA-punto final), los resultados se pueden guardar en cualquier carpeta.**

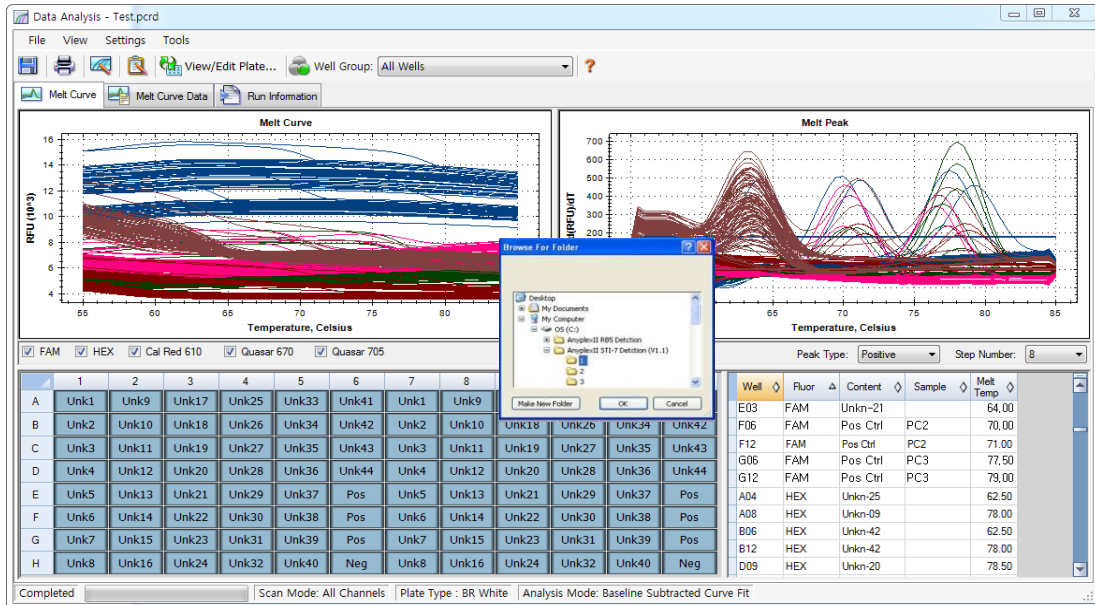


Fig. 13. Exportar todos los datos de las hojas de cálculo a la carpeta seleccionada

4) Asegúrese de que los resultados se han guardado en la carpeta "1".

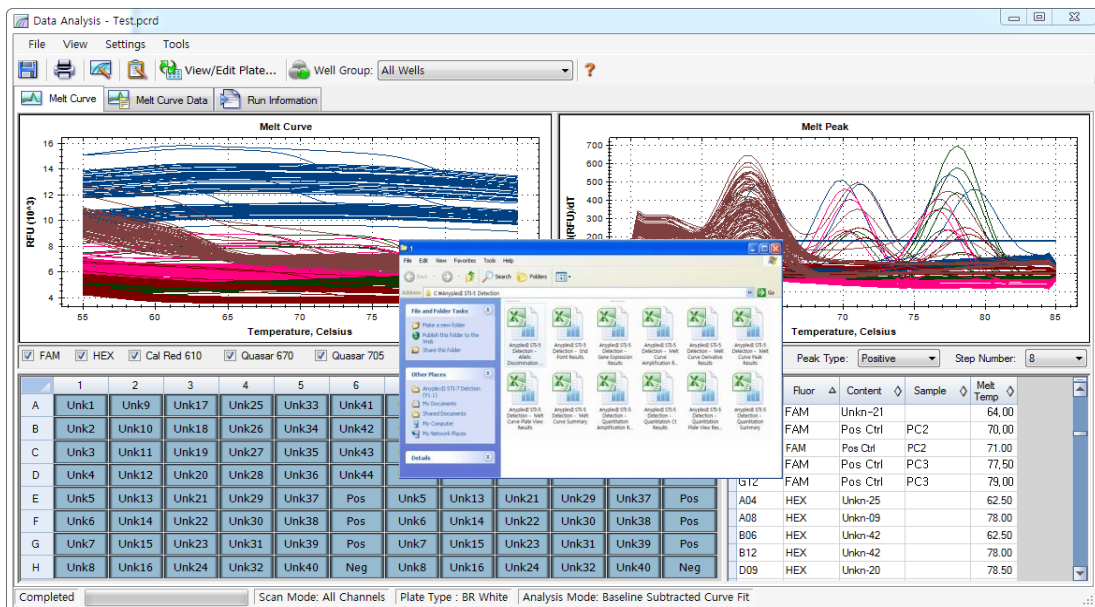


Fig. 14. Archivos de resultados exportados

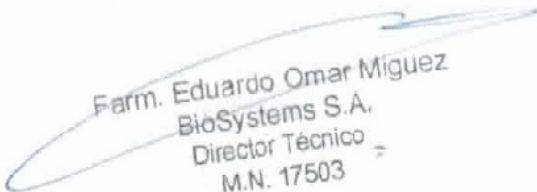
**Nota: Omite los pasos 5) a 7) y en caso de End point-CMTA (CMTA-punto final) pase a la siguiente fase de análisis.**

5) Vuelva al paso 2) y seleccione “14” en **Paso número**. Repita los pasos 3) y 4) y guarde los datos en la carpeta designada “2”.


6) Vuelva al paso 2) y seleccione “20” en **Paso número**.

7) Repita los pasos 3) y 4) y guarde los datos en **la carpeta “3”**. Los datos de cada paso se guardan como se indica más abajo.

Número de paso	Carpeta designada
8	1
14	2
20	3



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



Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.



## B-2. Uso de la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene)

1) Después del test, haga clic en la pestaña Curva de Fusión (Melt curve) para confirmar los resultados de Pico de Fusión (Melt Peak).

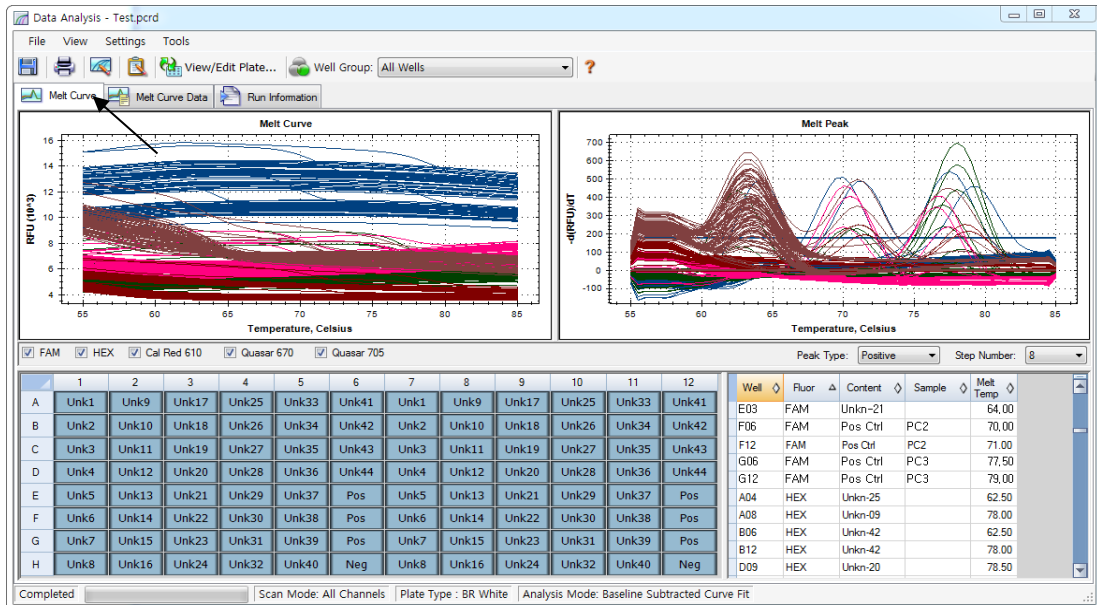


Fig. 15. Resultados Pico de Fusión (Melt Peak)

2) Seleccione **Seegene Export** (Exportación de Seegene) en el menú Tools (Herramientas).

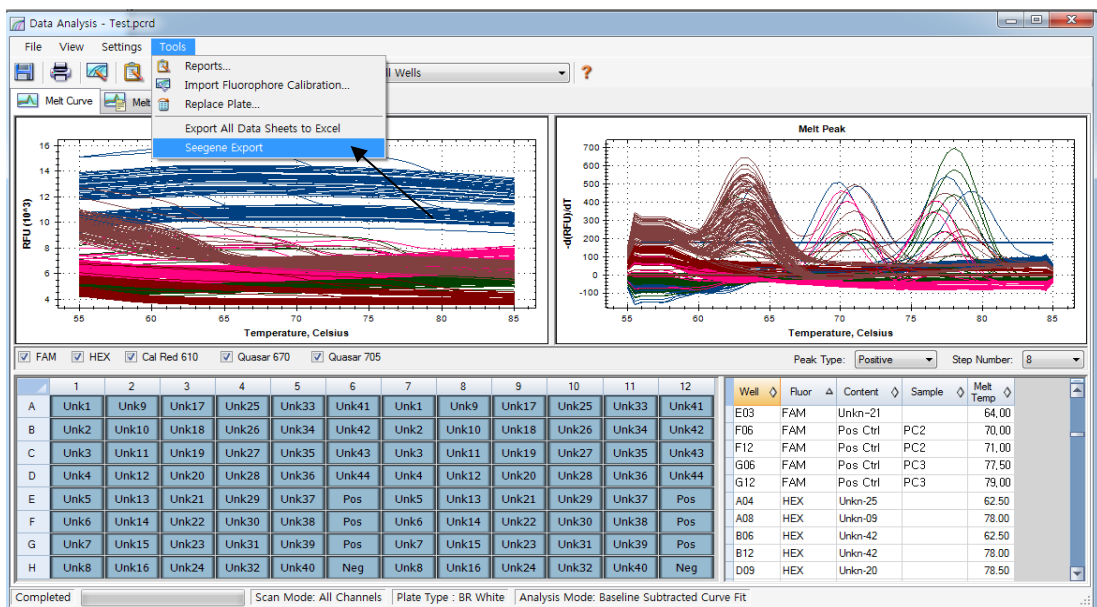


Fig. 16. Seegene Exprot

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.

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

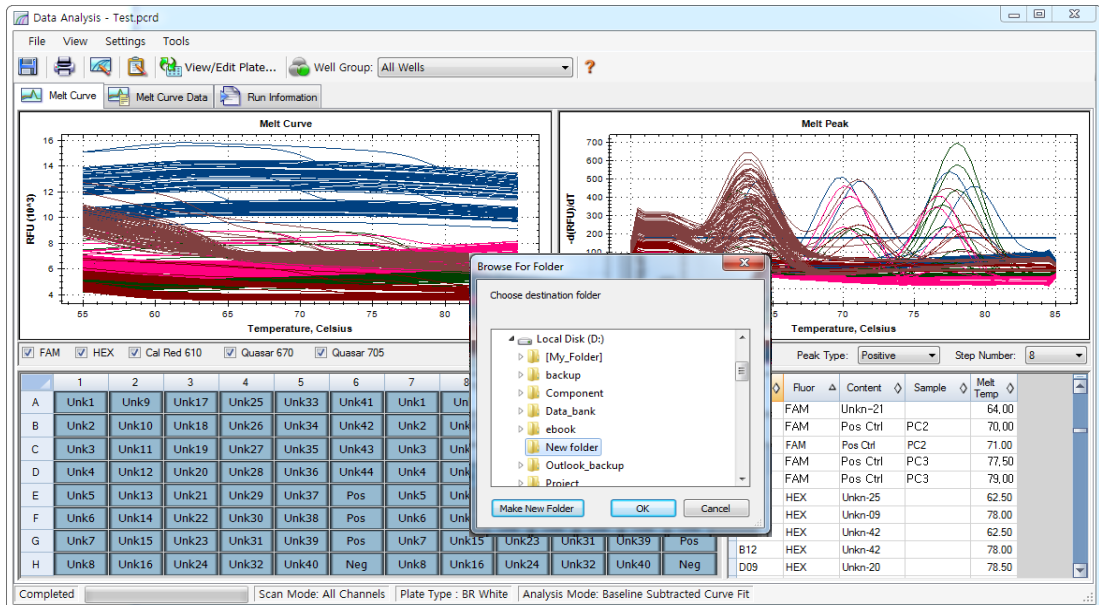


Fig. 17. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

### C. Configure el análisis de datos en Seegene Viewer

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

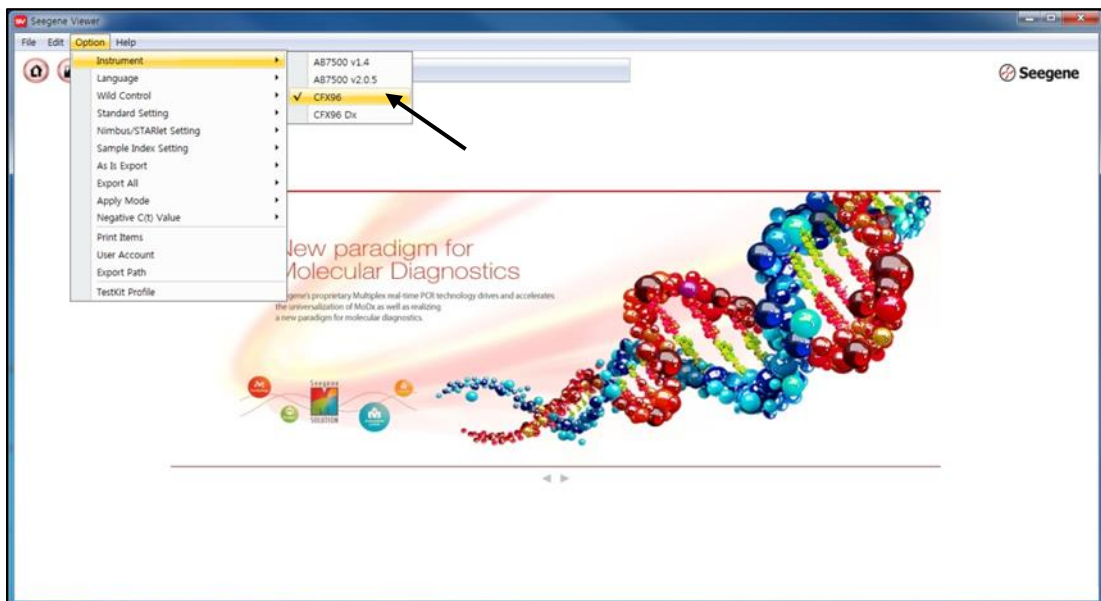


Fig. 18. Seegene Viewer

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.



2) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Open (Abrir)** para encontrar el archivo guardado en la carpeta "1" o en la carpeta "MeltStep8" y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

**Nota:** Encuentre los datos guardados en una carpeta cualquiera en caso de End point-CMTA (CMTA-punto final).

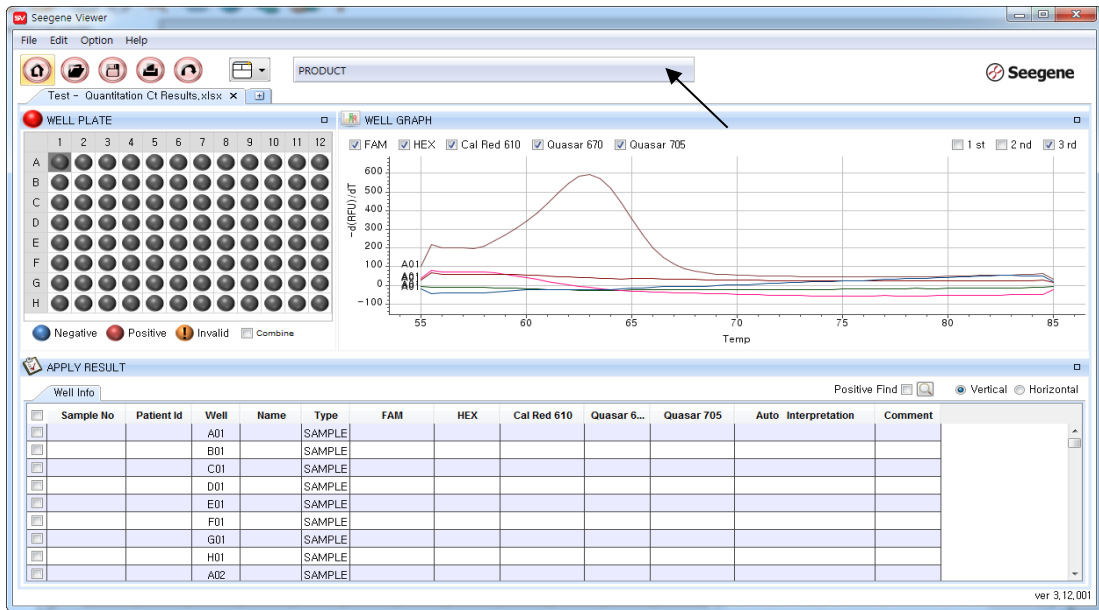


Fig. 19. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

**Nota:** Verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit de prueba (8 strip / 96 plate / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

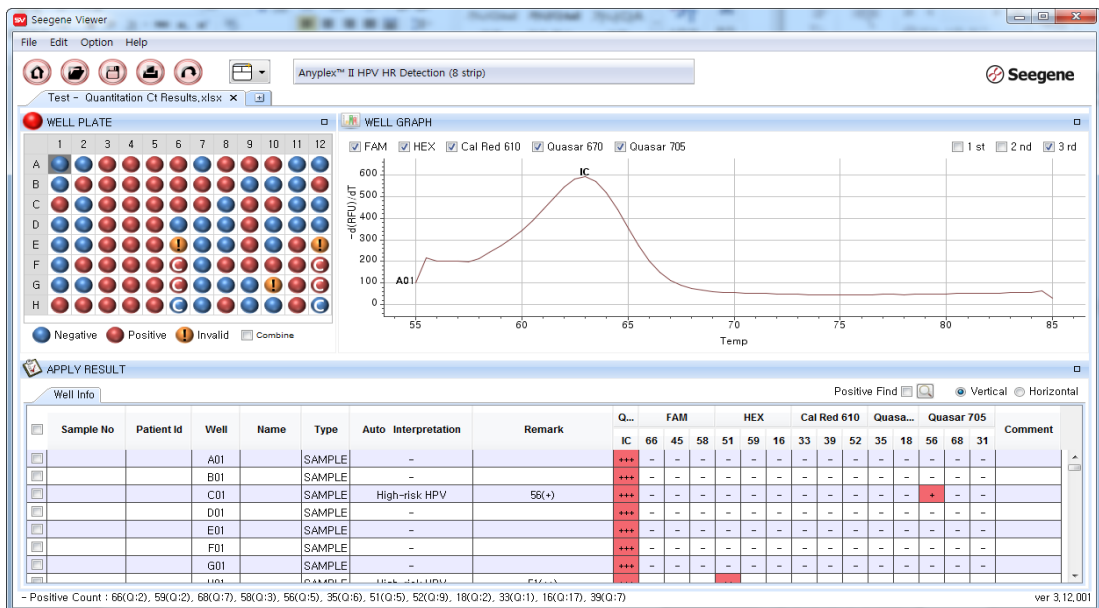


Fig. 20. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

## 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 CFX96™ Dx System (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos: Protocol Setup (Configuración de protocolo), Plate Setup (Configuración de placa) y 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)**.

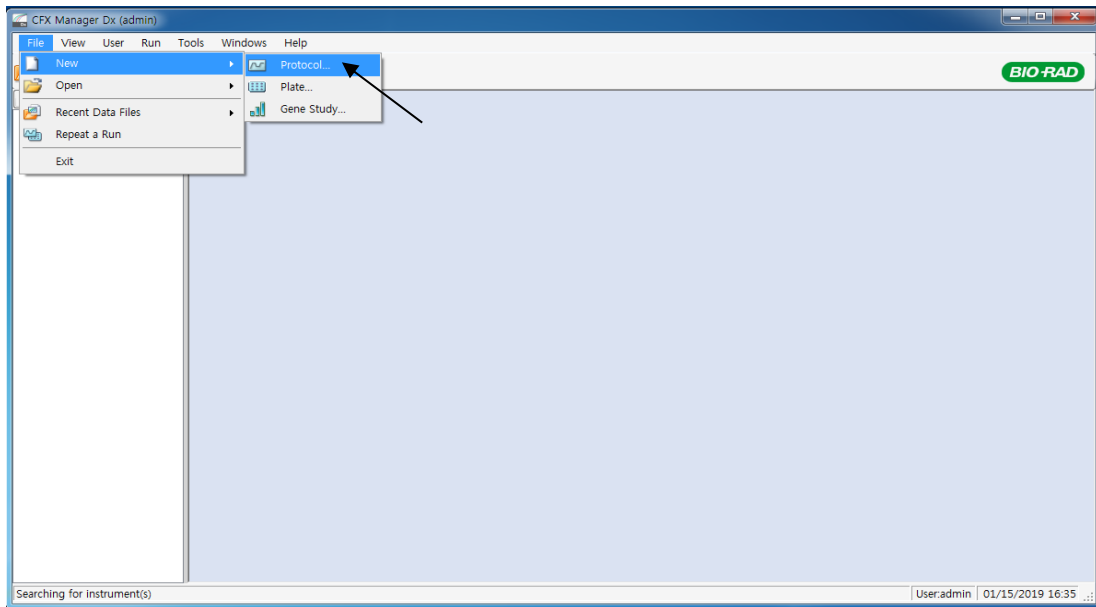


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

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

**i) cyclic-CMTA (CMTA-cíclico) (análisis Melt de tres veces)**

Paso	Temp.	Duración	No. de ciclos
1	50°C	4 min	
2	95°C	15 min	
3	95°C	30 seg	30
4	60°C	1 min	
5	72°C	30 seg	
6	GOTO Paso 3, 29 veces más		
7	55°C	30 seg	
8*	Melting curve 55°C~85°C (5 s / 0,5°C)		
9	95°C	30 seg	10
10	60°C	1 min	
11	72°C	30 seg	
12	GOTO Paso 9, 9 veces más		
13	55°C	30 seg	
14*	Melting curve 55°C~85°C (5 s / 0,5°C)		
15	95°C	30 seg	10
16	60°C	1 min	
17	72°C	30 seg	
18	GOTO Paso 15, 9 veces más		
19	55°C	30 seg	
20*	Melting curve 55°C~85°C (5 s / 0,5°C)		

\* **Nota: Lectura de placa en el Paso 8, 14 y 20.** La fluorescencia se detecta a la temperatura Melting.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**ii) End point-CMTA (CMTA-punto final) (Análisis de Melt de una vez)**

Paso	Temp.	Duración	No. de ciclos
1	50°C	4 min	
2	95°C	15 min	
3	95°C	30 seg	50
4	60°C	1 min	
5	72°C	30 seg	
6	GOTO Paso 3, 49 veces más		
7	55°C	30 seg	
8*	Melting curve 55°C~85°C (5 s / 0,5°C)		

\* **Nota: Lectura de placa en el Paso 8.** La fluorescencia se detecta a la temperatura Melting.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

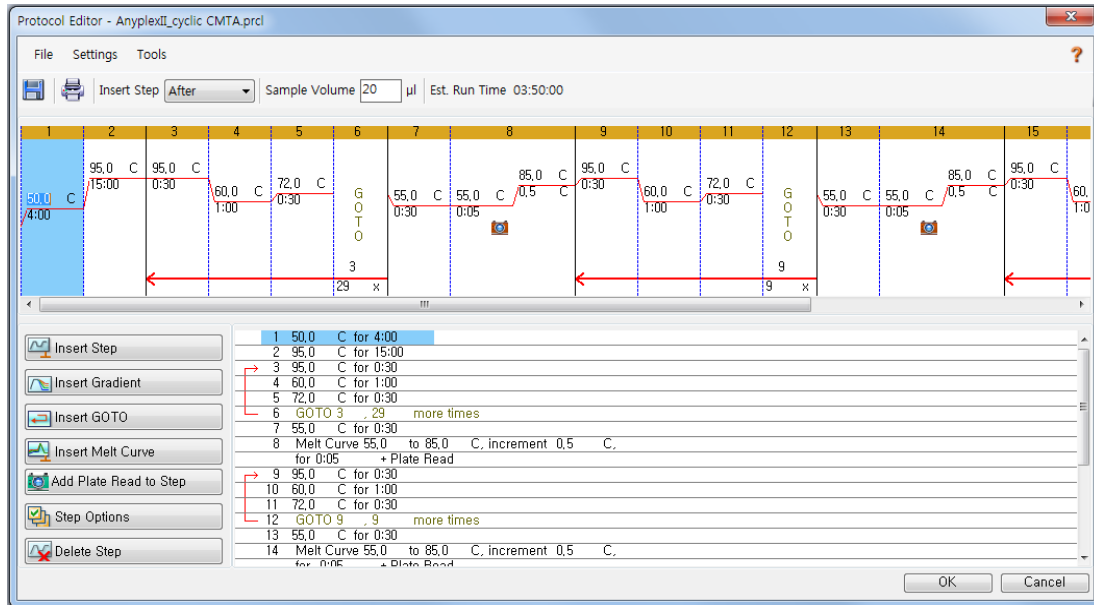


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo) (cyclic-CMTA (CMTA-cíclico))

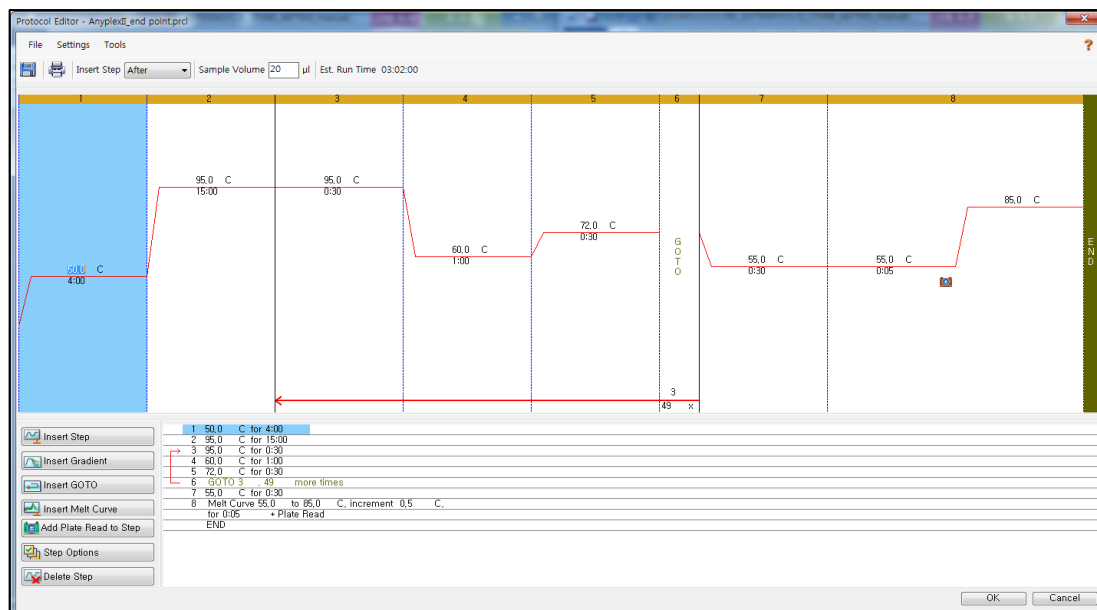


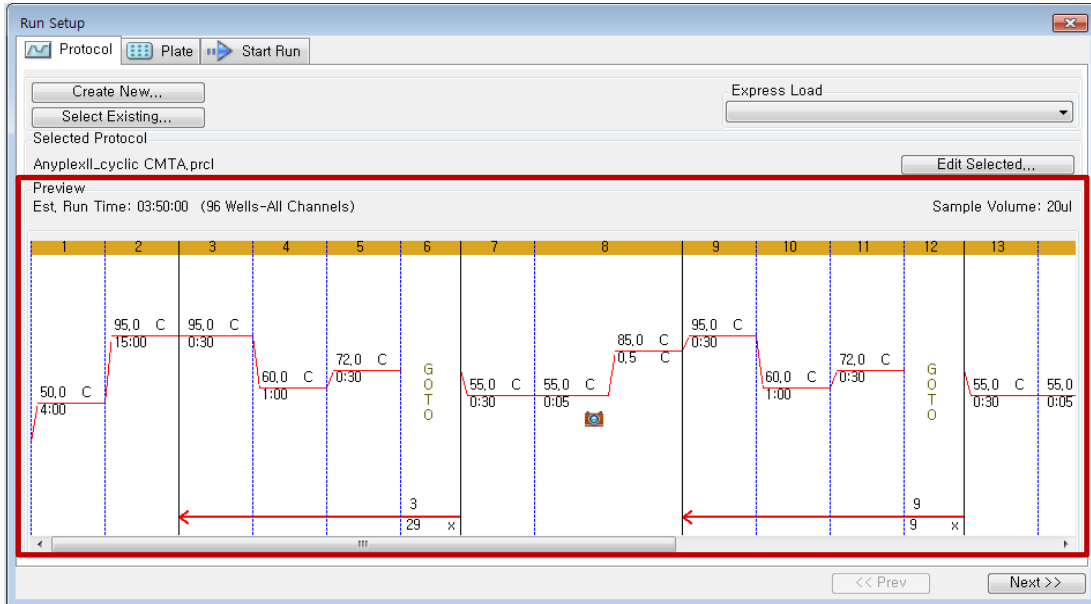
Fig. 3. Protocol Editor (Editor de protocolo) (End point-CMTA (CMTA-punto final))

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

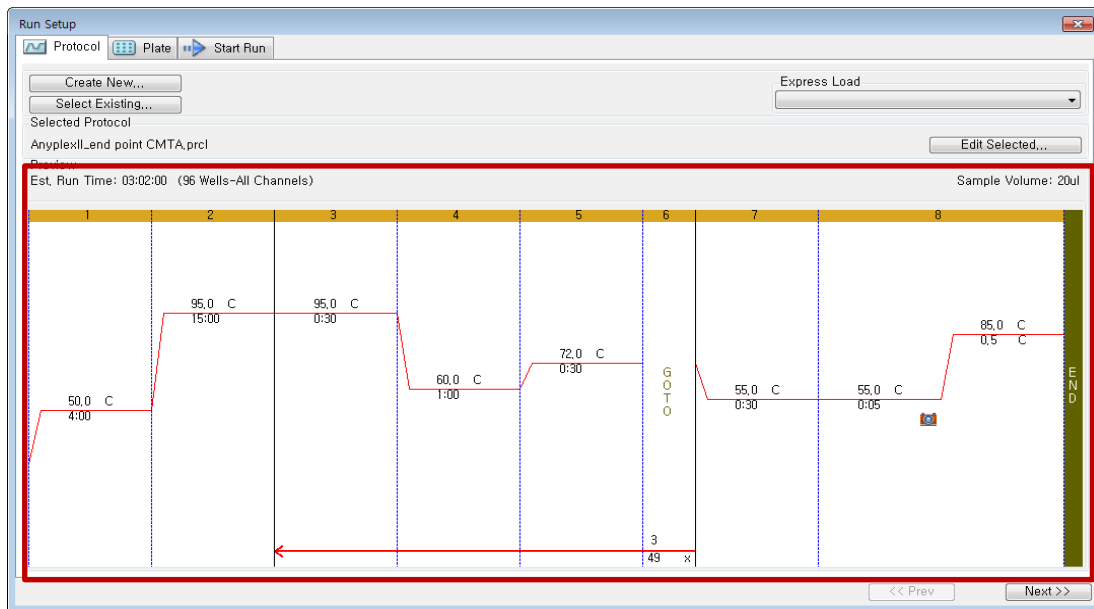
Farm. Eduardo Omar Miguez  
BioSystems S.A.  
Director Técnico  
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

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



**Fig. 4. Run Setup Protocol (Protocolo de configuración Ejecutar)**  
(cyclic-CMTA (CMTA-cíclico))



**Fig. 5. Run Setup Protocol (Protocolo de configuración Ejecutar)**  
(End point-CMTA (CMTA-punto final))

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**B. Plate Setup (Configuración de la placa)**

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

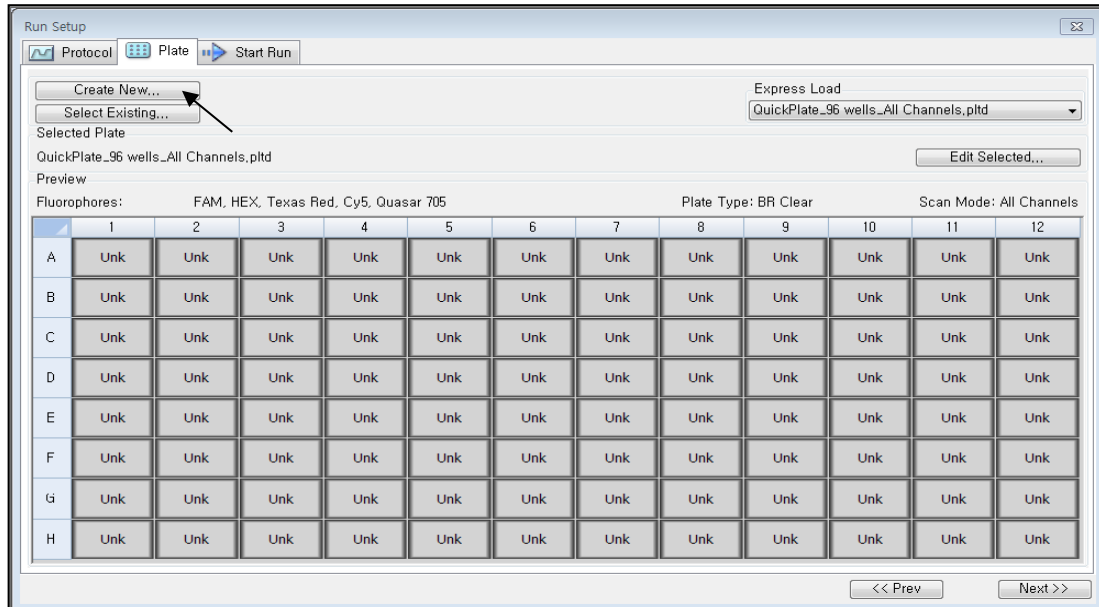


Fig. 6. Plate Editor (Editor de placa)

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

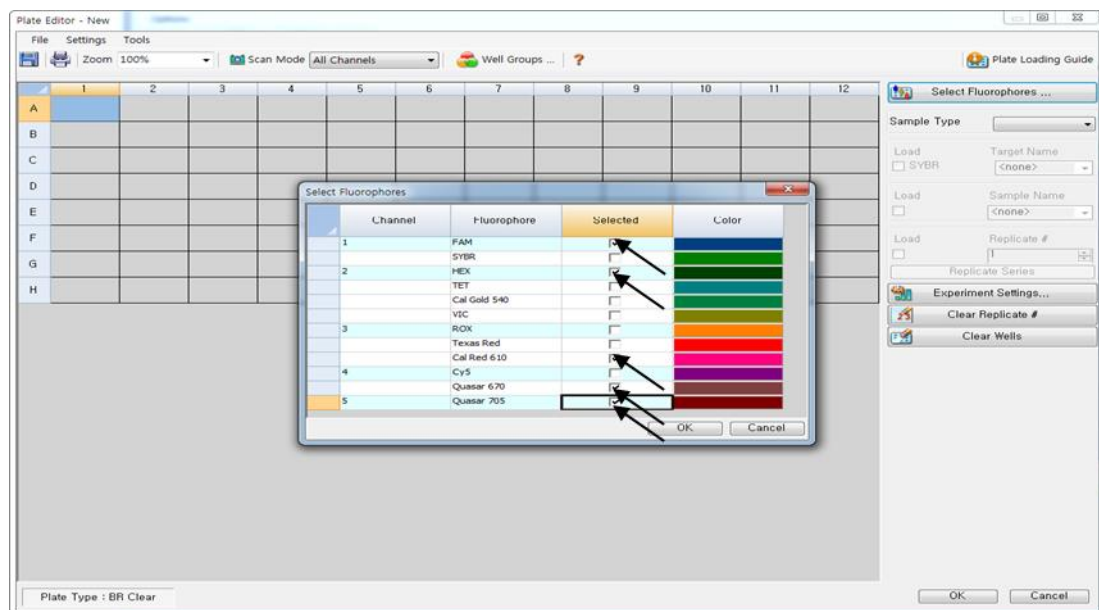


Fig. 7. Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos) (FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705)



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, Quasar 670 y Quasar 705**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y **PC (PC1, PC2, y PC3)**, y presione la tecla Intro.

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))**.

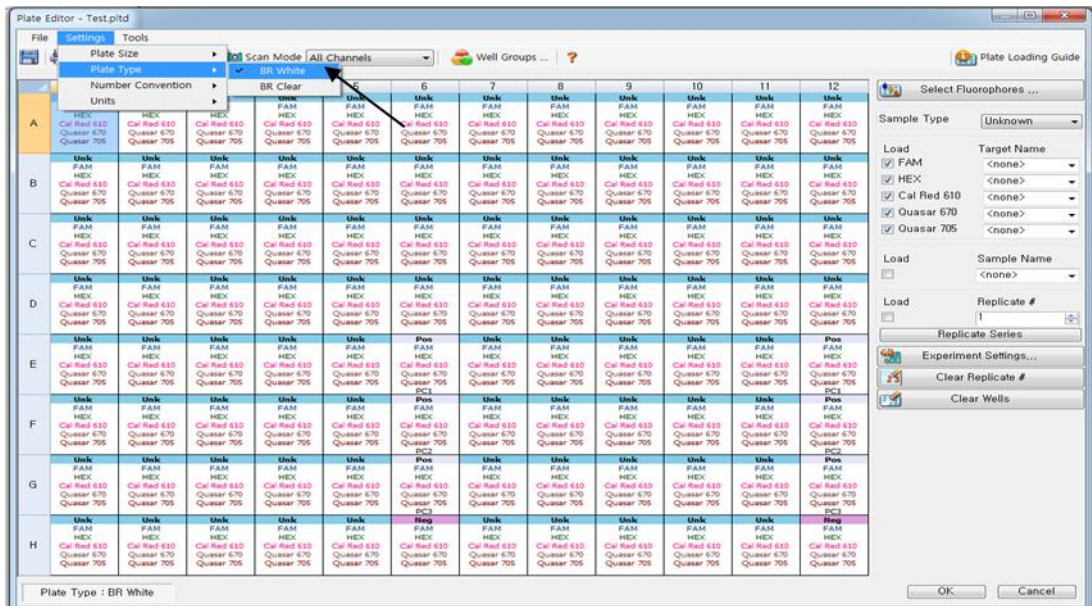


Fig. 8. Plate Setup (Configuración de la placa)

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



8) Regresará a la ventana **Run Setup (Configuración de Ejecución)**.

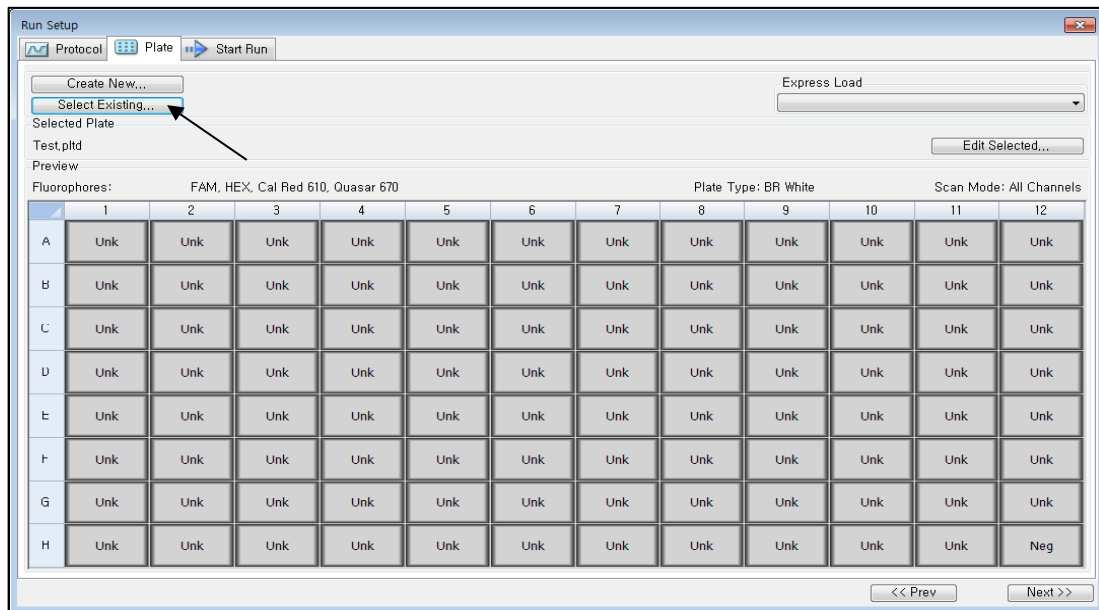


Fig. 9. **Run Setup (Configuración de Ejecución): Plate (Placa)**

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

### C. Start Run (Inicio del ciclo)

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

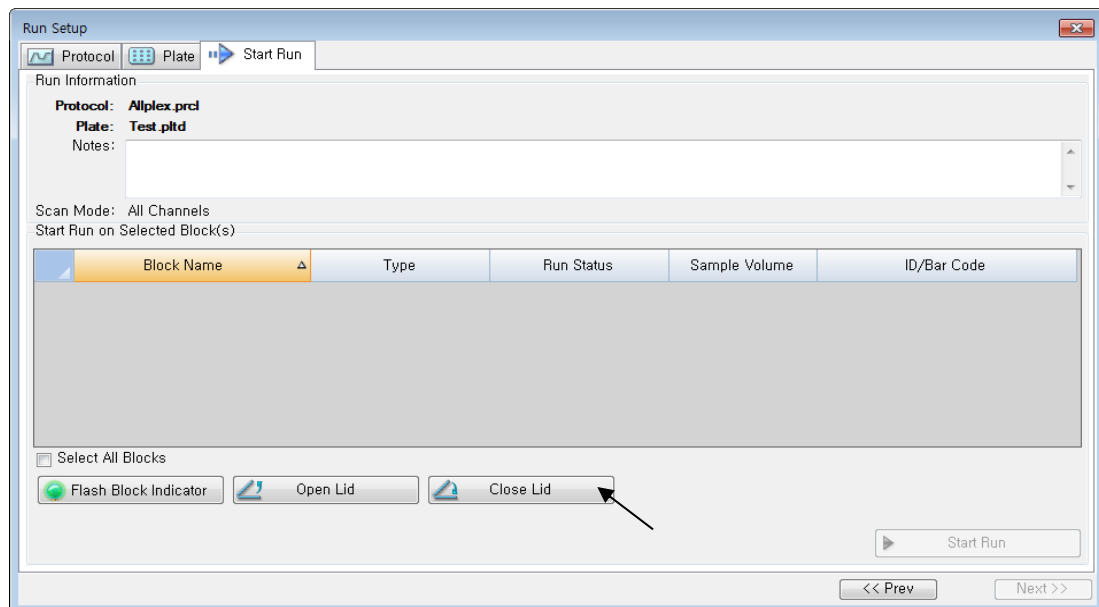


Fig. 10. **Close Lid (Cerrar tapa)**

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.

### 1.3. Análisis de datos

#### A. Crear carpetas para exportar datos

##### A-1. cyclic-CMTA (CMTA-cíclico)

• Cuando se use la función 'Export All Data Sheet to excel' (Exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel) (véase página 45)

1) Para guardar los datos de cada paso de detección de la curva de fusión a partir del archivo de resultados, cree tres carpetas para cada uno: "1" para los datos del paso 8, "2" para los datos del paso 14 y "3" para los datos del paso 20.

• Cuando use la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene) (véase página 49)

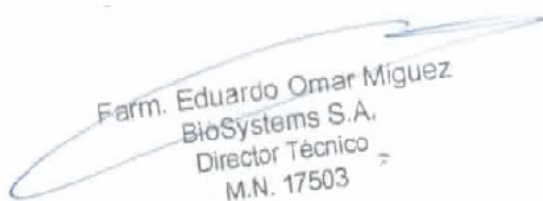
1) Para guardar los datos de todos los pasos de detección de la curva de fusión a partir del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El nombre de la carpeta puede ser el que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas MeltStep8, MeltStep14 y MeltStep20 para guardar los datos de los puntos de fusión en la carpeta que creó el usuario).

##### A-2. End point-CMTA (CMTA-punto final)

1) Para guardar los datos del punto de fusión del archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El usuario puede configurar el nombre de la carpeta como desee.



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

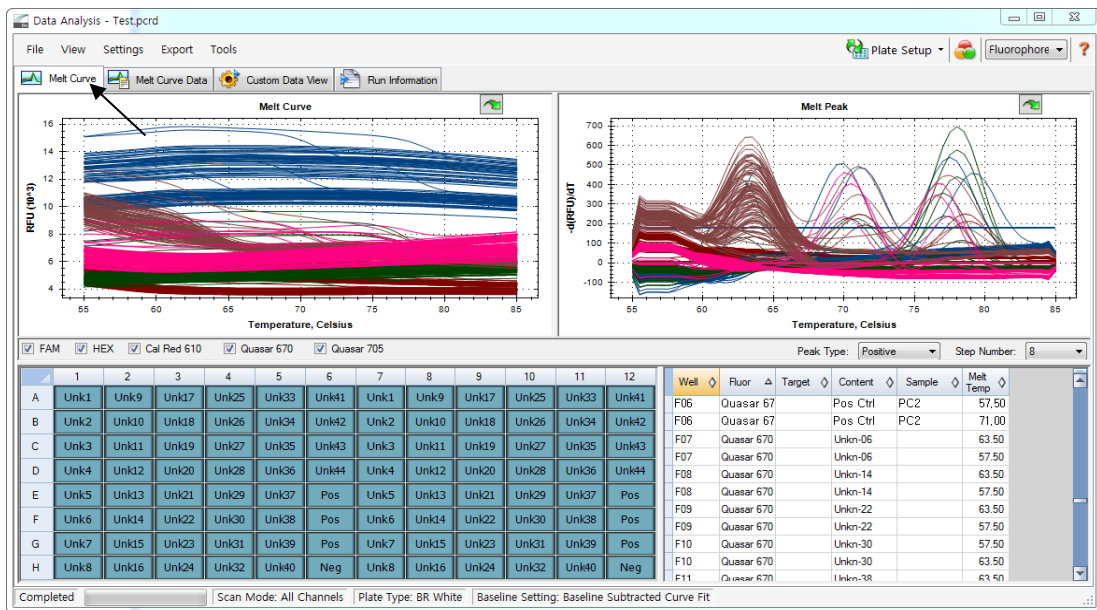


Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**B. Configuración previa para el análisis de datos en CFX Manager™**

**B-1. Uso de la función ‘Export All Data Sheet to excel’ (exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel)**

1) Después del test, haga clic en la pestaña Curva de Fusión (Melt curve) para confirmar los resultados de Pico de Fusión (Melt Peak).



**Fig. 11. Resultados Pico de Fusión (Melt Peak)**

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.

2) Seleccione “8” en Paso número y “Export All Data Sheets to Excel” (Exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel) en el menú Export(Exportar).

**Nota:** Seleccion “Export All Data Sheets” (Exportar todas las hojas de datos) (Excel 2007 o Excel 2003) directamente en caso de End point-CMTA (CMTA-punto final).

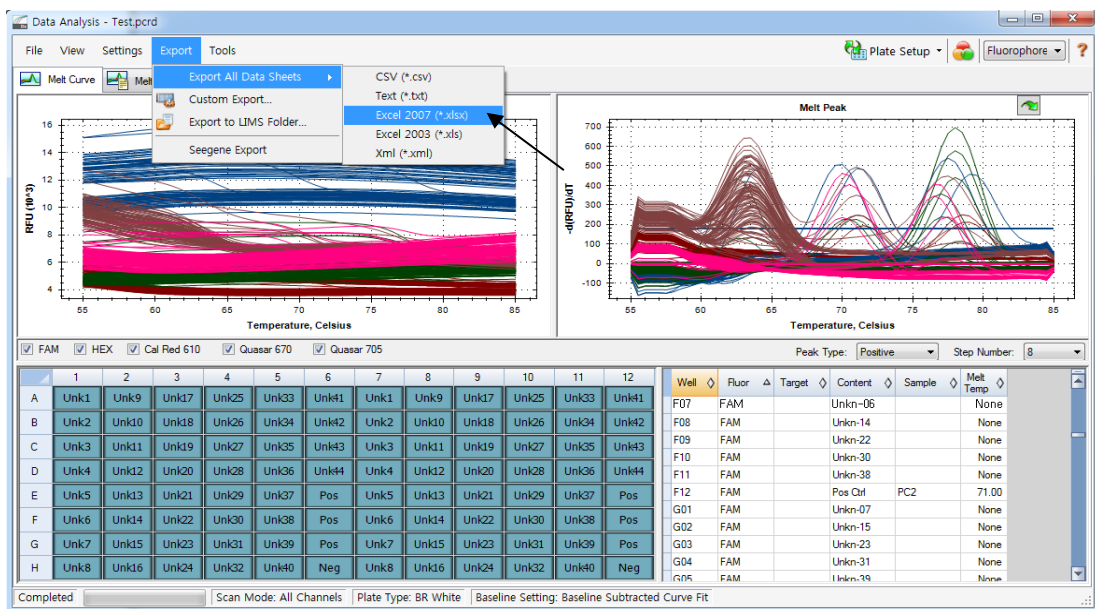
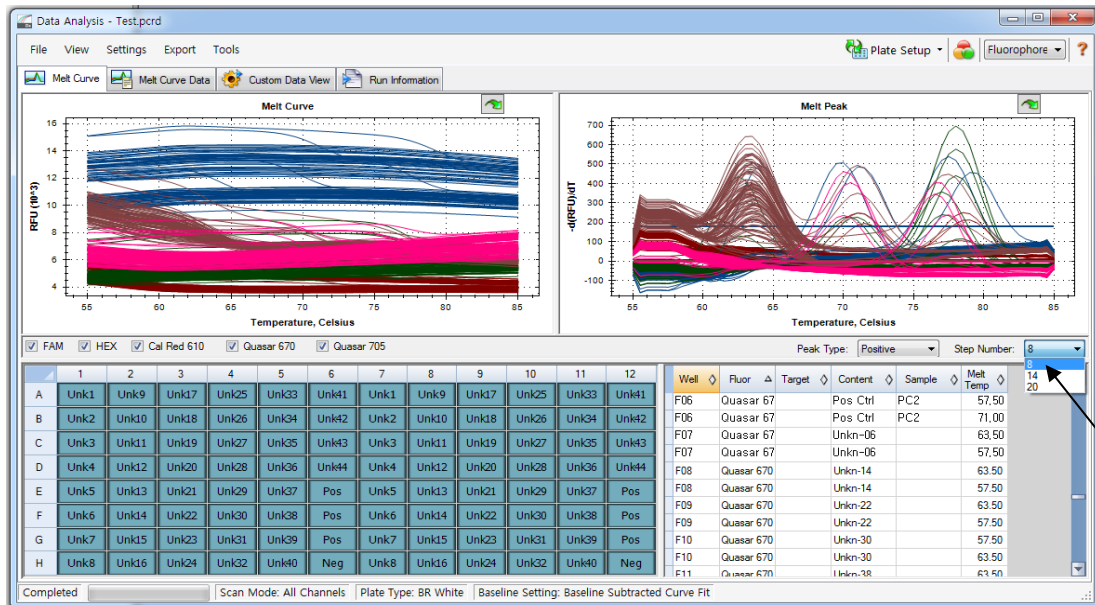


Fig. 12. Export All Data Sheets to Excel (Exportar todos los datos de la hoja de cálculo a Excel)

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

Dra. MARIANA MILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.

3) Guarde el resultado en la carpeta especificada “1”.

**Nota: En caso de End point-CMTA (CMTA-punto final), los resultados se pueden guardar en cualquier carpeta.**

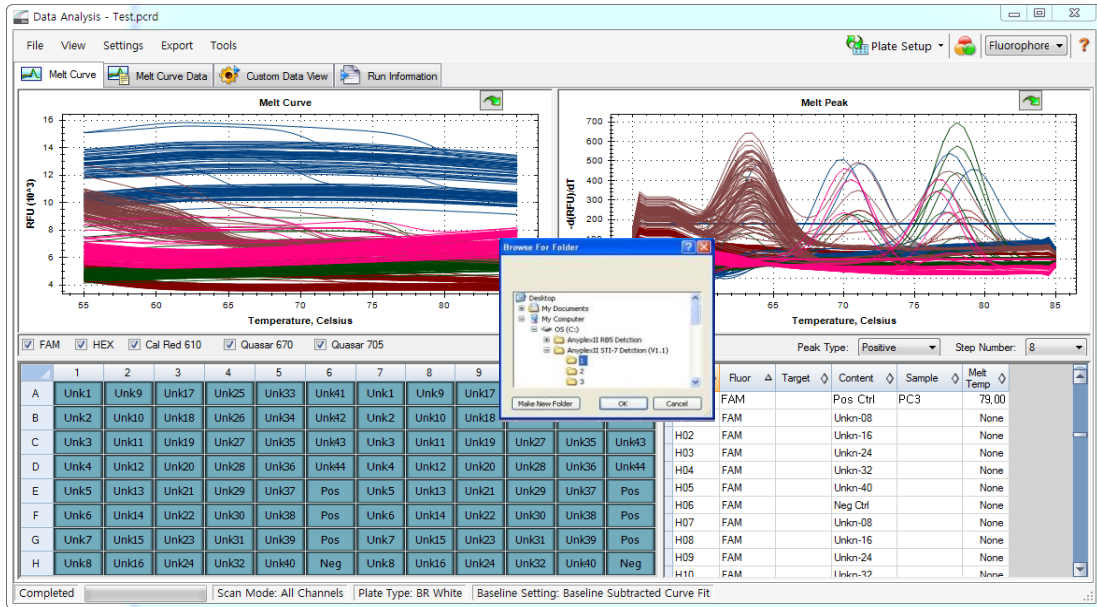


Fig. 13. Exportar todos los datos de las hojas de cálculo a la carpeta seleccionada

4) Asegúrese de que los resultados se han guardado en la carpeta “1”.

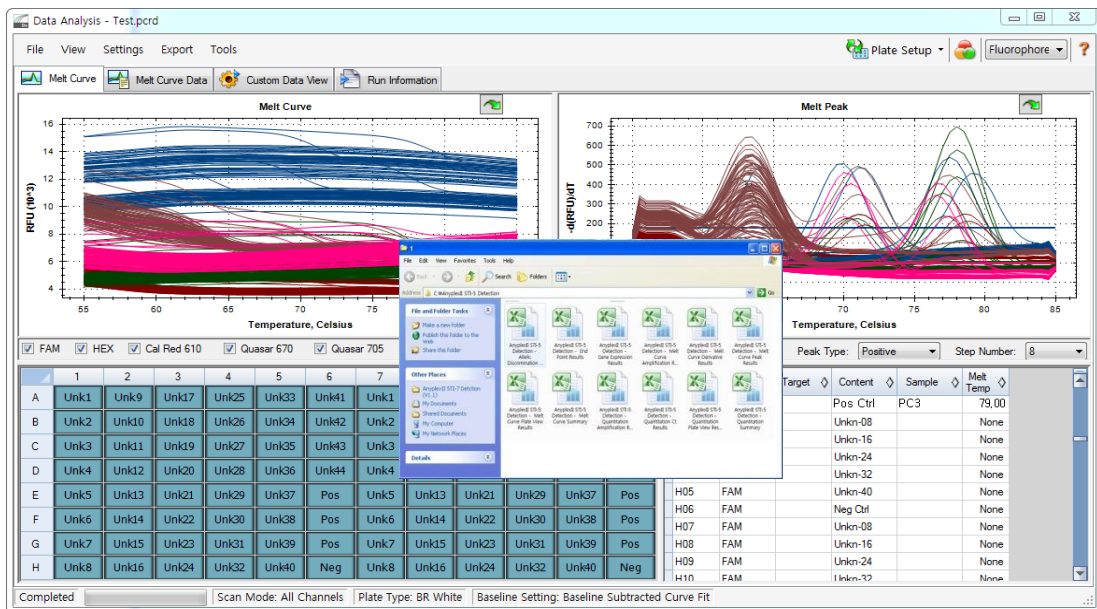


Fig. 14. Archivos de resultados exportados

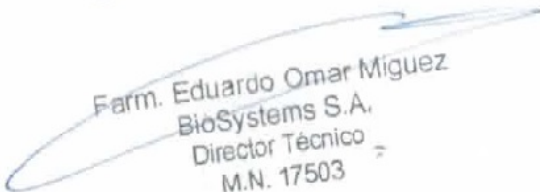
**Nota: Omite los pasos 5) a 7) y en caso de End point-CMTA (CMTA-punto final) pase a la siguiente fase de análisis.**

5) Vuelva al paso 2) y seleccione “14” en **Paso número**. Repita los pasos 3) y 4) y guarde los datos en la carpeta designada “2”.

6) Vuelva al paso 2) y seleccione “20” en **Paso número**.

7) Repita los pasos 3) y 4) y guarde los datos en **la carpeta “3”**. Los datos de cada paso se guardan como se indica más abajo.

Número de paso	Carpeta designada
8	1
14	2
20	3



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



Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.



## B-2. Uso de la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene)

1) Después del test, haga clic en la pestaña Curva de Fusión (Melt curve) para confirmar los resultados de Pico de Fusión (Melt Peak).

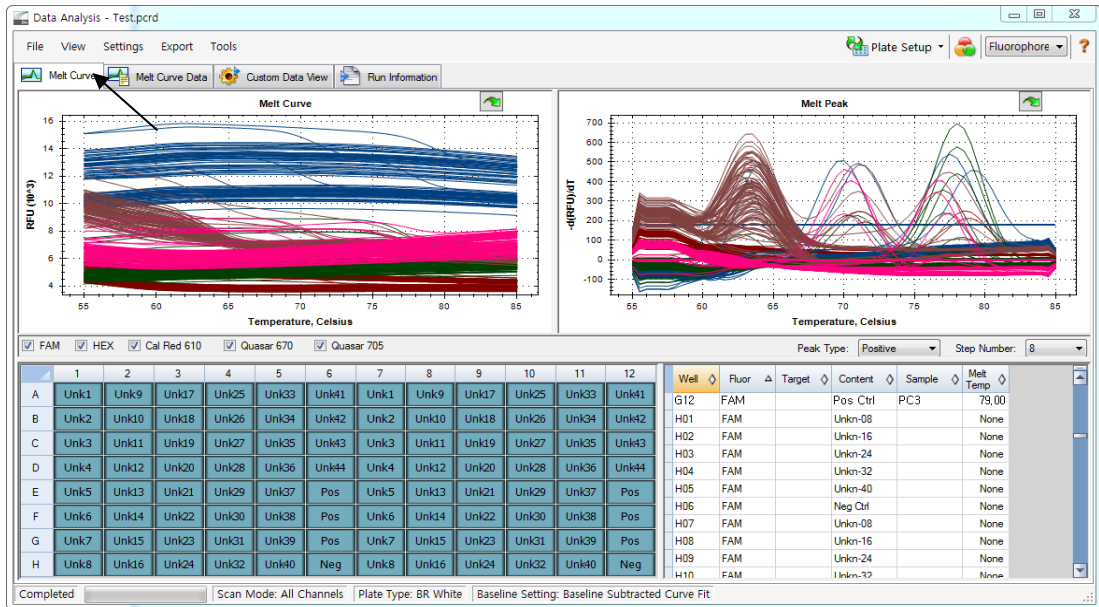


Fig. 15. Resultados Pico de Fusión (Melt Peak)

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

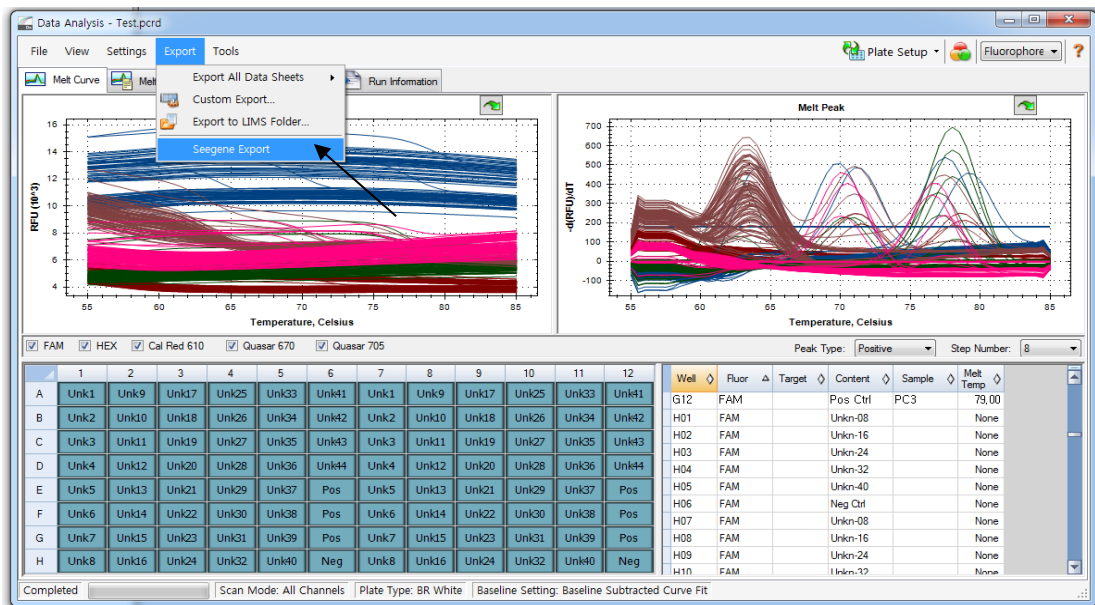


Fig. 16. Seegene Export (Exportación de Seegene)

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

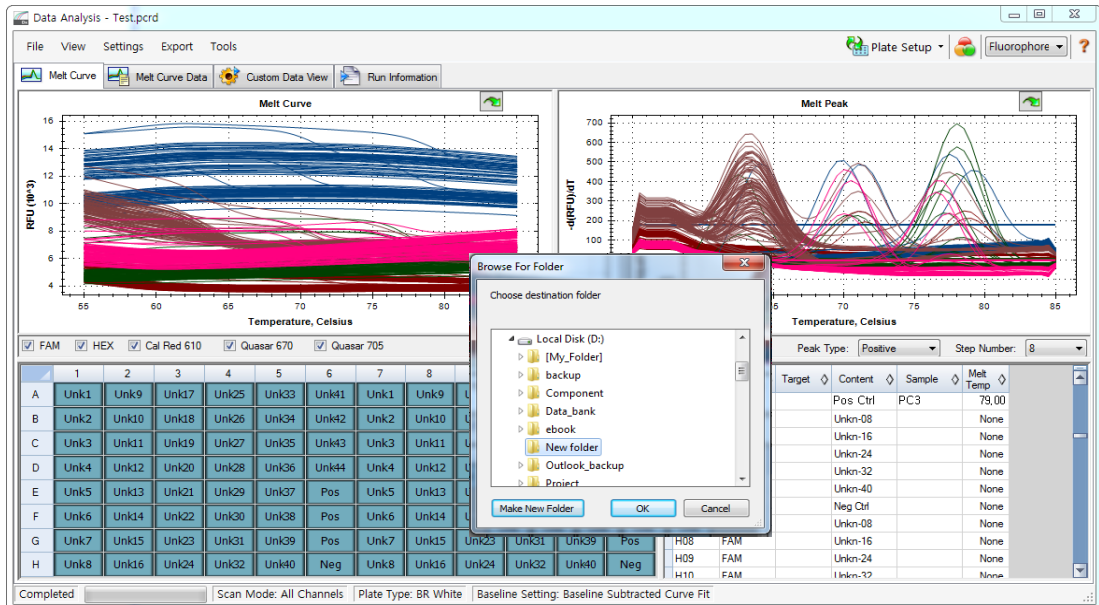


Fig. 17. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

### C. Configure el análisis de datos en Seegene Viewer

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

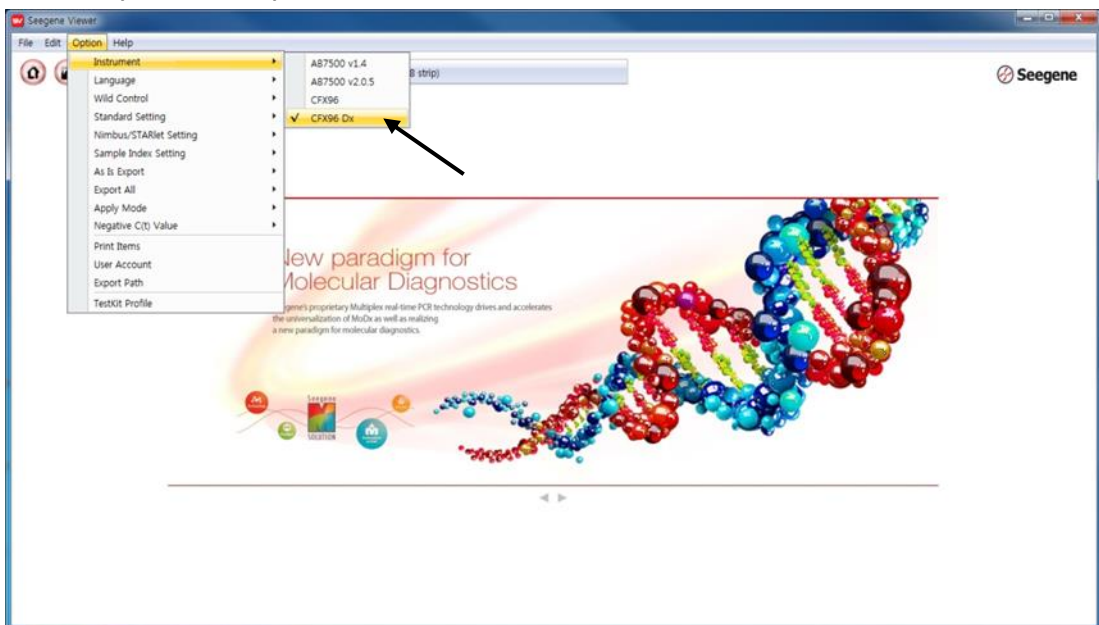


Fig. 18. Seegene Viewer

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APLICADA  
BioSystems S.A.



1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Open (Abrir)** para encontrar el archivo guardado en la carpeta "1" o en la carpeta "MeltStep8" y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

**Nota:** Encuentre los datos guardados en una carpeta cualquiera en caso de End point-CMTA (CMTA-punto final).

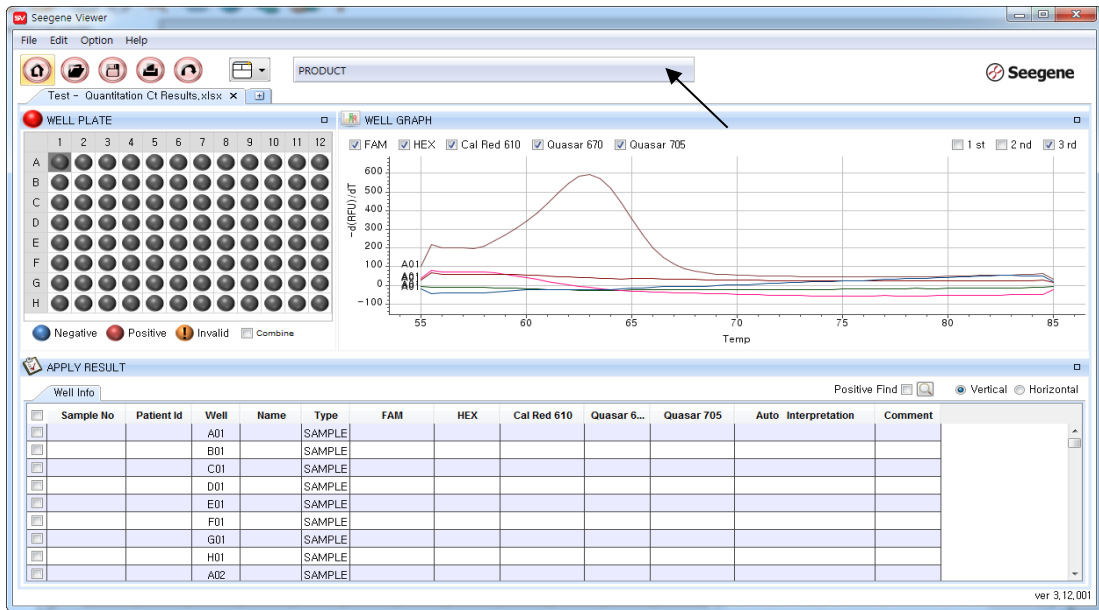


Fig. 19. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

**Nota:** Verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit de prueba (8 strip / 96 plate / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

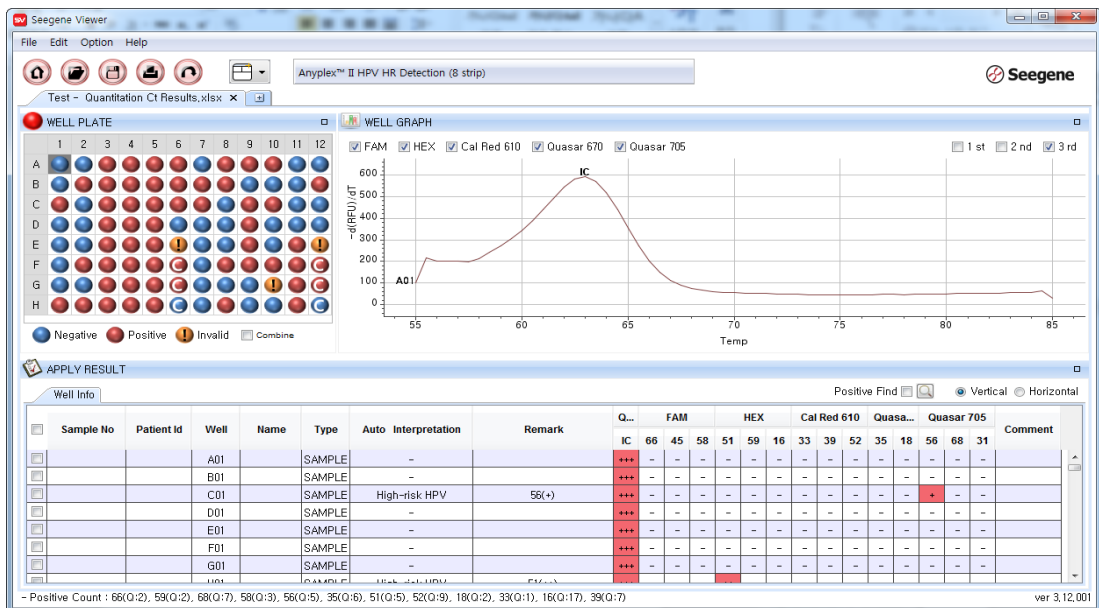
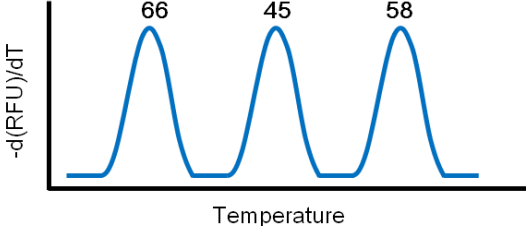
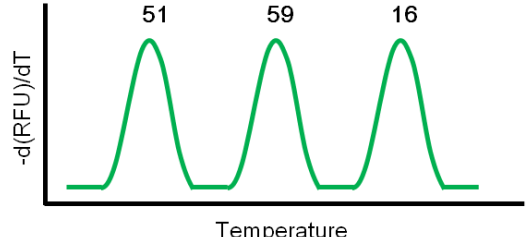
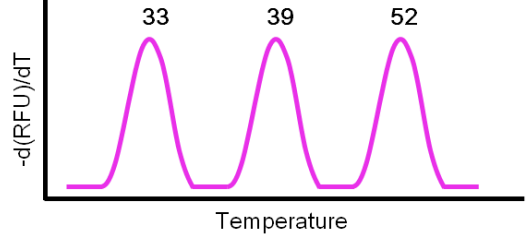
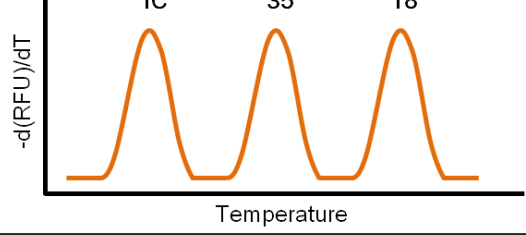
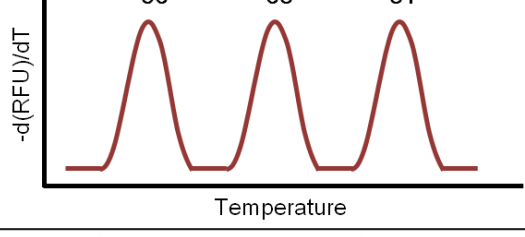


Fig. 20. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

**RESULTADOS**
**1. Información de los analitos**

Fluorophore	Anplex™ II HPV HR Detection
FAM	 <p>The graph shows three distinct peaks in blue. The x-axis is labeled 'Temperature' and the y-axis is labeled '-d(RFU)/dT'. The peaks are labeled with their respective melting temperatures: 66, 45, and 58.</p>
HEX	 <p>The graph shows three distinct peaks in green. The x-axis is labeled 'Temperature' and the y-axis is labeled '-d(RFU)/dT'. The peaks are labeled with their respective melting temperatures: 51, 59, and 16.</p>
Cal Red610	 <p>The graph shows three distinct peaks in magenta. The x-axis is labeled 'Temperature' and the y-axis is labeled '-d(RFU)/dT'. The peaks are labeled with their respective melting temperatures: 33, 39, and 52.</p>
Quasar670	 <p>The graph shows three distinct peaks in orange. The x-axis is labeled 'Temperature' and the y-axis is labeled '-d(RFU)/dT'. The peaks are labeled with their respective melting temperatures: IC, 35, and 18.</p>
Quasar705	 <p>The graph shows three distinct peaks in dark red. The x-axis is labeled 'Temperature' and the y-axis is labeled '-d(RFU)/dT'. The peaks are labeled with their respective melting temperatures: 56, 68, and 31.</p>

**2. Interpretación de los resultados**
**A. cyclic-CMTA (CMTA-cíclico)**

Resultado HPV*	Resultado IC*	Interpretación
+++ o ++ o +	+++ o ++	<b>Ácido nucleico objetivo, detectado.</b> - Identificación del tipo HPV objetivo
+++ o ++ o +	+ o -	<b>Ácido nucleico objetivo, detectado**</b> - Identificación del tipo HPV objetivo - Pueden estar presentes genotipos de HPV adicionales que no se detectaron.
-	+++ o ++	<b>Ácido nucleico objetivo, no detectado</b>
-	+ o -	<b>No válido</b> - Una señal de IC sea débil o negativa sugiere recogida de muestras, procesos o presencia inadecuados de inhibidores. - Repita el test desde el paso de extracción de ácido nucleico usando otra parte alícuota de la muestra original.

Resultado	cyclic-CMTA (CMTA-cíclico) (cyclic Catcher Melting Temperature Analysis)		
	Primer punto CMTA	Segundo punto CMTA	Tercer punto CMTA
+++	+	+	+
++	-	+	+
+	-	-	+
-	-	-	-

\* No se ha observado Control Interno ni ninguna otra señal: véase SOLUCIÓN DE PROBLEMAS.

\*\* La señal de Control Interno se puede reducir o estar ausente debido a una alta carga de patógenos.

**B. End point-CMTA (CMTA-punto final)**

Resultado HPV*	Resultado IC*	Interpretación
+	+	<b>Ácido nucleico objetivo, detectado</b> - Identificación del tipo HPV objetivo
+	-	<b>Ácido nucleico objetivo, detectado**</b> - Identificación del tipo HPV objetivo - Pueden estar presentes genotipos de HPV adicionales que no se detectaron.
-	+	<b>Ácido nucleico objetivo, no detectado</b>
-	-	<b>No válido</b> - Una señal de IC sea débil o negativa sugiere recogida de muestras, procesos o presencia inadecuados de inhibidores. - Repita el test desde el paso de extracción de ácido nucleico usando otra parte alícuota de la muestra original.

\* No se ha observado Control Interno ni ninguna otra señal: véase SOLUCIÓN DE PROBLEMAS.

\*\* La señal de Control Interno se puede reducir o estar ausente debido a una alta carga de patógenos.

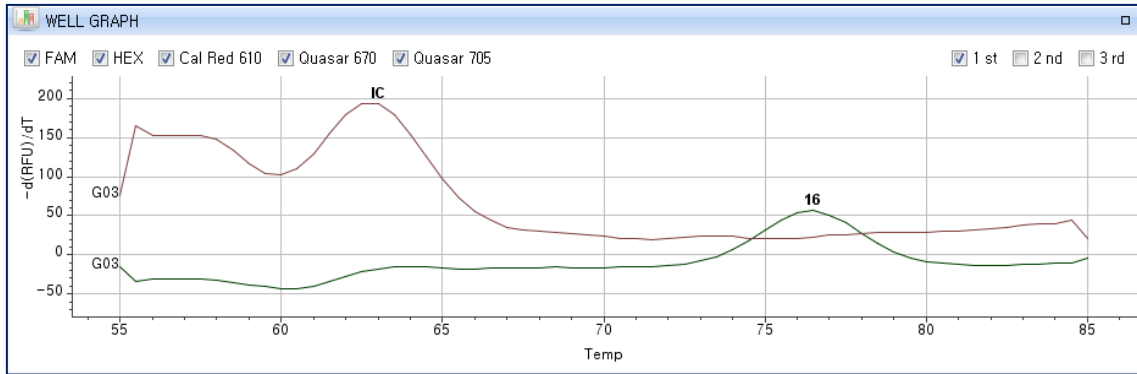
Farm. Eduardo Omar Miguez  
BioSystems S.A.  
Director Técnico  
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

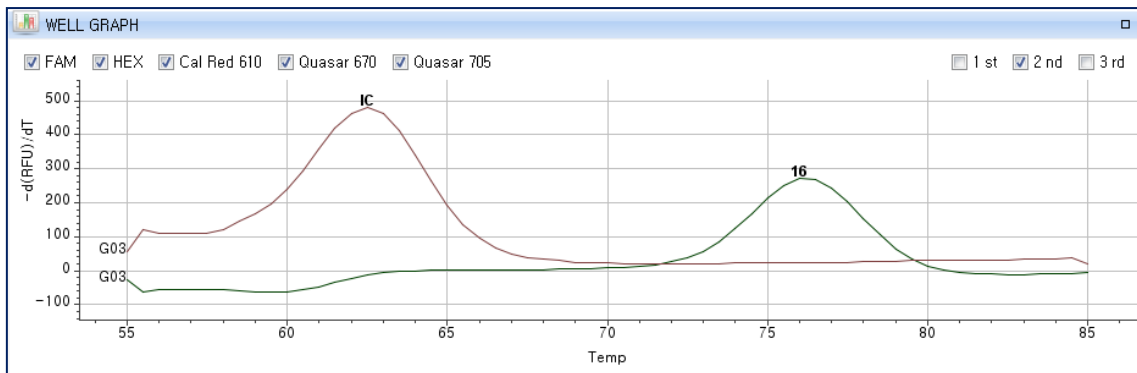
### 3. Aplicación a muestras clínicas

#### A. cyclic-CMTA (CMTA-cíclico)

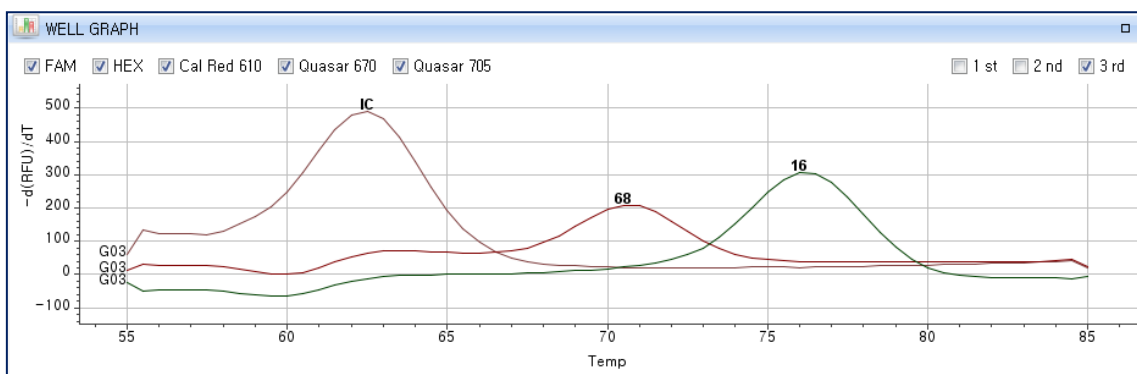
##### 1<sup>er</sup> Melt Peak (pico de fusión) (primer punto CMTA)



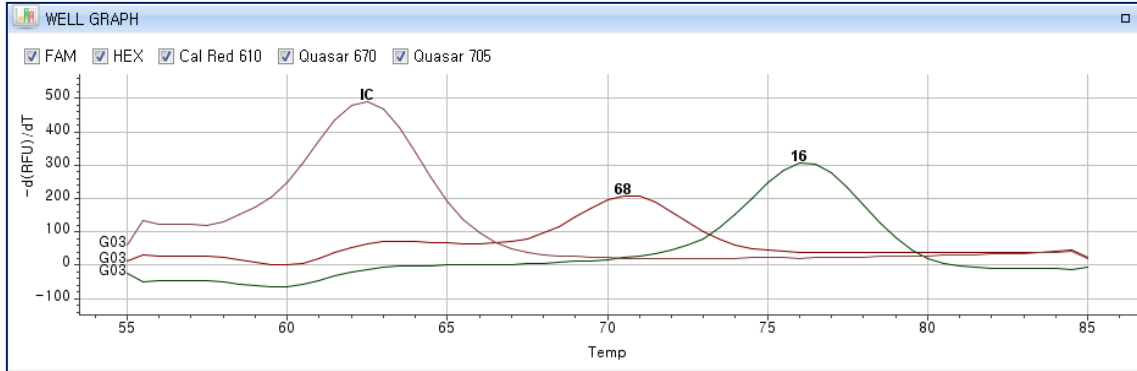
##### 2<sup>o</sup> Melt Peak (pico de fusión) (Segundo punto CMTA)



##### 3<sup>o</sup> Melt Peak (pico de fusión) (tercer punto CMTA)



Interpretación automática	Observaciones	Quasar 670	FAM			HEX			Cal Red 610			Quasar 670		Quasar 705		
			IC	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68
Alto-Riesgo HPV	16(+++), 68(+)	+++	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	+	-

**B. End point CMTA (CMTA-punto final)**


Interpretación automática	Observaciones	Quasar 670	FAM			HEX			Cal Red 610			Quasar 670		Quasar 705		
			IC	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68
High-risk HPV	16(+++), 68(+)	IC	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31
		+++	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	+	-

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.

**SOLUCIÓN DE PROBLEMAS**

<b>Anplex™ II HPV HR Detection</b>		
<b>OBSERVACIONES</b>	<b>POSIBLES CAUSAS</b>	<b>SOLUCIÓN</b>
<b>No se observa señal</b>	Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo.	Seleccione los fluoróforos adecuados para el análisis de datos.
	Ciclo PCR incorrecto o temperatura de la máquina	Compruebe las condiciones de PCR y repita la PCR con la configuración adecuada si es necesario.
	Dejar los reactivos a temperatura ambiente durante un largo tiempo o en condiciones de almacenamiento inadecuadas	Compruebe las condiciones de almacenamiento (véase página 10) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) de los reactivos y use un nuevo kit si fuese necesario.
	Programación incorrecta	Repita el procedimiento de detección con una configuración adecuada.
	Fallo en la extracción de ácido nucleico	Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado.
	Error en la recogida de muestras	Si no se observa señal del objetivo como de IC significa que la muestra se recogió de manera inadecuada. Recoger la muestra.
<b>No se observa señal de Control Interno</b>	Alta carga de ácido nucleico del patógeno	Sin detección de la señal de IC, la señal objetivo se considera "detectada" cuando se observa el objetivo. Para detección de una señal de IC, repita la prueba diluyendo las muestras. ① Diluya el ácido nucleico molde en RNase-free Water a 10X-100X y repita la PCR. ② Diluir la muestra en PBS a 10X-100X y repetir desde la extracción.
	Presencia de inhibidor PCR	
<b>Se observan señales o falsos positivos en el Control Negativo</b>	Presencia de contaminación cruzada	Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Uso solo las puntas de filtro durante el procedimiento de extracción. Cambie las puntas entre los tubos. Repita la extracción de ácido nucleico con el nuevo conjunto de reactivos.
	Contaminación cruzada entre PC1, 2 y 3.	Reinicie el proceso desde el paso de extracción o Reinicielo desde el paso de PCR en tiempo real.

<b>Anyplex™ II HPV HR Detection</b>		
<b>OBSERVACIONES</b>	<b>POSIBLES CAUSAS</b>	<b>SOLUCIÓN</b>
<b>No se observan señales ni supuestos falsos negativos en el Control Positivo</b>	Error en la recogida de muestras	Recoger la muestra.
	Almacenamiento incorrecto de la muestra	Recoja la muestra y repita el proceso entero. Asegúrese de que el producto se almacena en las condiciones recomendadas.
	Error en la extracción de ácido nucleico	Vuelva a extraer el ácido nucleico.
	Error al añadir ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes	Compruebe los números de muestra para el ácido nucleico que contienen los tubos y asegúrese de añadir el ácido nucleico en los tubos de PCR correctos durante el proceso de detección.
	Presencia de inhibidor	Diluya la muestra en PBS (10~100x), y repita el proceso desde el paso de extracción con la muestra diluida.
	Los fluoróforos del análisis de datos no cumplen con el protocolo	Seleccione los fluoróforos adecuados para el análisis de datos.
	Programación incorrecta	Repita la PCR con una configuración adecuada.
	Mezcla de PCR incorrecta	Compruebe si se añadieron o no todos los componentes (si suele precomponer la premezcla, la sensibilidad se reduce). Cada reactivo usado para la homogenización y centrifugue el tubo de reactivos antes de iniciar la PCR en tiempo real.
	Dejar los reactivos a temperatura ambiente durante un largo tiempo o en condiciones de almacenamiento inadecuadas	Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) de los reactivos y use un nuevo kit si fuese necesario.

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 Anyplex™ II HPV HR Detection viene garantizada por los primers diseñados específicamente para los objetivos de interés según las condiciones de reacción definidas. El Anyplex™ II HPV HR Detection se ha validado para la reactividad cruzada en 80 patógenos diferentes: los resultados ilustraron amplificaciones de PCR solo en los objetivos.

Organismo	Número de cepa	Resultado del test†
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 15150	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285D	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	ATCC VR-577	-
<i>Corynebacterium genitalium</i>	ATCC 33030	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	KCTC 13047	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 700802D-5	-
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 15489	-
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ATCC 25586D-5	-
<i>Gardnerella vaginalis</i>	ATCC 14019	-
<i>Haemophilus ducreyi</i>	ATCC 33940	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ATCC 4357D-5	-
<i>Lactobacillus crispatus</i>	ATCC 33820	-
<i>Lactobacillus gasseri</i>	ATCC 33323	-
<i>Lactobacillus iners</i>	ATCC 55195	-
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	-
<i>Mobiluncus curtisii</i>	ATCC 35241	-
<i>Mobiluncus mulieris</i>	ATCC 35243	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 700825D	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 700532D	-
<i>Neisseria sicca</i>	ATCC 29256	-
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	ATCC 49031D-5	-
<i>Propionibacterium acnes</i>	ATCC 6919	-
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 12453	-

Organismo	Número de cepa	Resultado del test†
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 6059	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15522	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	KCTC 49642	-
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 27137D-5	-
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	ATCC 29213	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC BAA-611D	-
<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC 49456D-5	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 700294D-5	-
<i>Trichomonas vaginalis</i>	ATCC 30001D	-
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	ATCC 33695	-
<i>Candida albicans</i>	ATCC 14053	-
Cytomegalovirus	ATCC VR-807	-
Epstein-Barr virus	ATCC VR-602	-
Herpes simplex virus 1	ATCC VR-260	-
Herpes simplex virus 2	ATCC VR-734	-
Human Adenovirus 40	ATCC VR-931	-
HPV1	ATCC 45021	-
HPV2	ATCC 45022	-
HPV6	ATCC 45150D	-
HPV11	ATCC 45151D	-
HPV26	Aislado coreano	-
HPV34	Aislado coreano	-
HPV40	Aislado coreano	-
HPV42	Aislado coreano	-
HPV43	ATCC 40339	-
HPV44	Aislado coreano	-
HPV53	Aislado coreano	-
HPV54	Aislado coreano	-
HPV61	Aislado coreano	-
HPV62	Aislado coreano	-
HPV69	Aislado coreano	-
HPV70	Aislado coreano	-
HPV71	Aislado coreano	-

Organismo	Número de cepa	Resultado del test†
HPV72	Aislado coreano	-
HPV73	Aislado coreano	-
HPV81	Aislado coreano	-
HPV82	Aislado coreano	-
HPV83	Aislado coreano	-
HPV84	Aislado coreano	-
HPV102	Aislado coreano	-
HPV16	ATCC 45113D	+ (HPV16)
HPV18	ATCC 45152D	+ (HPV18)
HPV31	ATCC 65446	+ (HPV31)
HPV33	Aislado coreano	+ (HPV33)
HPV35	ATCC 40330	+ (HPV35)
HPV39	Aislado coreano	+ (HPV39)
HPV45	Aislado coreano	+ (HPV45)
HPV51	Aislado coreano	+ (HPV51)
HPV52	Aislado coreano	+ (HPV52)
HPV56	ATCC 40549	+ (HPV56)
HPV58	Aislado coreano	+ (HPV58)
HPV59	Aislado coreano	+ (HPV59)
HPV66	Aislado coreano	+ (HPV66)
HPV68	Aislado coreano	+ (HPV68)
SiHa Cell	KCLB 30035	+ (HPV16)
HeLa Cell	KCLB 10002	+ (HPV18)

† 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

Dra. MARINA VILA PEREZ  
 APODERADA  
 BioSystems S.A.

## 2. Sensibilidad

Para determinar la sensibilidad de Anyplex™ II HPV HR Detection, se configuró una dilución en serie estándar de DNA plasmídico desde  $10^5$  a  $10^0$  copias/reacción y desde  $5 \times 10^3$  a  $10^1$  células/mL SiHa cell (HPV16) y HeLa cell (HPV18) y se analizó con Anyplex™ II HPV HR Detection. El límite de detección para Anyplex™ II HPV HR Detection es 50 copias/reacción para DNA plasmídico y 500 células/mL para SiHa cell (HPV16) y HeLa cell (HPV18).

## 3. Reproducibilidad

Un criterio para la prueba de repetibilidad es obtener los mismos resultados a lo largo del tiempo. El acuerdo porcentual (%) con el resultado esperado debe ser superior al 95%. La prueba de reproducibilidad usando pDNAs clonados fue realizada con 3 diferentes lotes de producto, 3 diferentes investigadores, 3 diferentes laboratorios y 7 diferentes puntos de tiempo. El acuerdo general para la Anyplex™ II HPV HR Detection fue de 99,4%.

## 4. Sustancias interferentes

Se llevó a cabo la prueba de interferencia utilizando sangre total humana y moco cervical como materiales externos no relacionados con las especies objetivo. Anyplex™ II HPV HR Detection mostró claramente que no hay influencia en los resultados observados de acuerdo con las condiciones mencionadas anteriormente.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.
















**REFERENCIAS**

1. Burd EM. [Human papillomavirus and cervical cancer.] Clin Microbiol Rev. (2003) 16(1): 1-17
2. Castle PE. [The potential utility of HPV genotyping in screening and clinical management.] J Natl Compr Canc Netw. (2008) 6(1): 83-95
3. Chris JM, Peter JS, Philip EC. [Clinical utility of HPV genotyping.] Gynecol Oncol. (2006) 103: 12-17
4. Chun JY, Kim KJ, Hwang IT, Kim YJ, Lee DH, Lee IK, Kim JK. [Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene.] Nucleic Acids Res. (2007) 35(6): e40
5. Chun JY. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] Seegene Bulletin (2012) 1: 1-4
6. Giorgi Rossi P, Bisanzì S, Paganini I, Di Iasi A, Angeloni C, Scalisi A, Macis R, Pini MT, Chini F, Carozzi FM. [HPV Prevalence Italian Working Group Prevalence of HPV high and low risk types in cervical samples from the Italian general population: a population based study.] BMC Infect Dis. (2010) 20(10): 214
7. Hwang IT. [Cyclic-CMTA: An Innovative Concept in Multiplex Quantification.] Seegene Bulletin (2012) 1: 11-15
8. Krane JF, Granter SR, Trask CE, Hogan CL, Lee KR. [Papanicolaou smear sensitivity for the detection of adenocarcinoma of the cervix: a study of 49 cases.] Cancer. (2001) 93(1): 8-15
9. Lee DH. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] Seegene Bulletin (2012) 1: 5-10
10. Li J, Mei J, Wang X, Hu L, Lin Y, Yang P. [Human papillomavirus type-specific prevalence in women with cervical intraepithelial neoplasm in Western China.] J Clin Microbiol. (2012) 50(3): 1079-1081
11. Novaes LC, Novaes MR, Simes-Barbosa A. [Diagnosis of human papillomatosis by polymerase chain reaction in cases of divergence between results of hybrid capture and papanicolaou cytology.] Braz J infect Dis. (2006) 10(3):169-172
12. Son S, Noh HT, An S. [Human papillomavirus status in cervical scrapes and biopsy specimens using the HPV genotyping DNA microarray.] Int J Gynaecol Obstet. (2006) 93(3): 258-259
13. Sun ZR, Ji YH, Zhou WQ, Zhang SL, Jiang WG, Ruan Q. [Characteristics of HPV prevalence among women in Liaoning province, China.] Int J Gynaecol Obstet. (2010) 109(2): 105-109
14. Wallace J, Woda BA, Pihan G. [Facile, Comprehensive High-Throughput Genotyping of Human Genital Papillomaviruses Using Spectrally Addressable Liquid Bead Microarrays.] J Mol Diagn. (2005) 7(1): 72-80
15. Ursu RG, Onofriescu M, Nemescu D, Iancu LS. [HPV prevalence and type distribution in women with or without cervical lesions in the Northeast region of Romania.] Virol J. (2011) 22(8): 558

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

Dr. MARINA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**SÍMBOLOS**

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

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ  
APODERADA  
BioSystems S.A.

**INFORMACIÓN DE PEDIDO**

Núm. Cat.	Producto	Tamaño
<b>Anyplex™ II HPV Series</b>		
HP7E00X	Anyplex™ II HPV HR Detection	100 rxns*
HP7S00X	Anyplex™ II HPV28 Detection	100 rxns*
* Para usar solo con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet.		
<b>Seeplex® HPV Series</b>		
HP6401Y	Seeplex® HPV4A ACE Screening	50 rxns
<b>Productos accesorios</b>		
SG1701	Ribo_spin vRD(Viral RNA/DNA Extraction Kit)	50 preps
<b>Sistema de extracción automatizada</b>		
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
EX00013C	STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit	384T / 1box
SGprep32-180701	SGprep32	EA
EX00003P	STARMag 96 UniPlate	96 T / 1box
EX00004T	STARMag 96 UniTube	96 T / 1box
SG71100	SEEPREP32	EA
EX00009P	STARMag 96 ProPrep (Plate Type)	96T / 1box
EX00009T	STARMag 96 ProPrep (Tube Type)	96T / 1box
EX00017P	STARMag 96 ProPrep C (Plate Type)	96T / 1box
EX00017T	STARMag 96 ProPrep C (Tube Type)	96T / 1box

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**  
**Informe gráfico**

**Número:**

**Referencia:** Rótulos y manuales

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 68 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica  
Date: 2022.05.17 15:41:00 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.05.17 15:41:01 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
Las Malvinas son argentinas

**Certificado - Redacción libre**

**Número:**

**Referencia:** EX-2022-14677726-APN-DGA#ANMAT

---

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN

PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

Nº EX-2022-14677726-APN-DGA#ANMAT

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que, de acuerdo con lo solicitado por la firma BIOSYSTEMS S.A., se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de los nuevos productos médicos para diagnóstico in vitro con los siguientes datos identificatorios característicos:

**NOMBRE COMERCIAL:** Anyplex II HPV HR Detection.

**INDICACIÓN DE USO:** El Anyplex™ II HPV HR Detection es un test cualitativo in vitro para la detección de 14 tipos de HPV de alto riesgo en muestras de citología en medio líquido e hisopos en el cérvix. Este ensayo identifica concretamente no solo HPV 16 y HPV 18, sino también otros 12 genotipos de HPV de alto riesgo individuales (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) a niveles de infección clínicamente relevantes.

**FORMA DE PRESENTACIÓN:** Anyplex II HPV HR detection (Ref. HP7E00X para 100 reacciones) - 4X HPV HR TOM (1 x 500ul) TOCE Oligo Mix (TOM): Reactivos de amplificación y detección. - EM1 (1 X 500ul) ADN polimerasa; Uracil-DNA glicosilada (UDG): Tampón que contiene dNTPs. - HPV HR PC1 (1 x 50ul) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos. - HPV HR PC2 (1 x 50ul) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos. - HPV HR PC3 (1 x 50ul) Control positivo: Mezcla de clones de patógenos. - RNasa-free Water (1 X 1000ul) Calidad ultrapura, grado PCR.

**PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN:** 13 meses conservado a -20°C.

**NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE:** Fabricado por Seegene Inc. Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu Seoul, 05548 Republic of Korea para MT Promedt Consulting GmbH Altenhofstrasse 80, 66386 St. Ingbert Germany.

**CATEGORÍA:** Uso profesional exclusivo.

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del **PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM-626-163.**

Nº EX-2022-14677726-APN-DGA#ANMAT

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica  
Date: 2022.06.13 11:14:07 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.06.13 11:14:07 -03:00