



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005439-22-8

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-005439-22-8 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones BioSystems S.A. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro denominado Allplex STI Essential Assay.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro 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 y normas complementarias.

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 modificatorias.

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 denominado Allplex STI Essential Assay, de acuerdo con lo solicitado por BioSystems S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2023-30327611-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 626-166 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5°.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6°.- Regístrese. Inscríbase 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 4°. 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 STI Essential Assay

Marca comercial: Seegene

Modelos:

Allplex STI Essential Assay (SD9801Y) x 50 determinaciones.

Allplex STI Essential Assay (SD9801X) x 100 determinaciones.

Indicación/es de uso:

Allplex STI Essential Assay es una prueba cuantitativa in vitro para la detección simple o múltiple de *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP), and *T. vaginalis* (TV), en muestras de orina, hisopo genital, citología en medio líquido y semen.

Forma de presentación: Allplex STI Essential Assay (SD9801Y) x 50 determinaciones:

1) 4X STI-EA MOM (Reactivo de amplificación y detección: Mezcla de oligos de MuDT (MOM) 1 x 250 µl

- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG);Buffer que contiene dNTPs) 1 x 250 μ L.
- 3) STI-EA 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 1mL.

Allplex STI Essential Assay (SD9801X) x 100 determinaciones:

- 1) 4X STI-EA MOM (Reactivo de amplificación y detección: Mezcla de oligos de MuDT (MOM) 1 x 500 μ L
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG);Buffer que contiene dNTPs) 1 x 500 μ L.
- 3) STI-EA 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 1000 μ L.
- 5) RNase-free Water (Calidad ultrapura, grado PCR) 1 x 1mL.

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° 1-0047-3110-005439-22-8

N° Identificatorio Trámite: 41283

AM

Allplex™

STI Essential Assay

(Núm. Cat. SD9801Y)

Sistema de PCR multiplex en tiempo real para la detección de *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Mycoplasma genitalium* (MG), *Mycoplasma hominis* (MH), *Ureaplasma urealyticum* (UU), *Ureaplasma parvum* (UP) y *Trichomonas vaginalis* (TV) en muestras de orina, hisopo genital, citología en medio líquido y semen.

Para usar con el

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. 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	10
MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS	10
PROTOCOLO	11
CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	19
RESULTADOS	39
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	42
RENDIMIENTO	44
REFERENCIAS	52
SÍMBOLOS	54
INFORMACIÓN DE PEDIDO	55

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.
- **Esta prueba ha sido validada para los siguientes tipos de muestras: muestra de orina, hisopo genital, citología en medio líquido y semen.** Este test no ha sido aprobado para ningún otro tipo de muestra.
- **Almacene las muestras 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.
- 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. 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 que productos amplificados contaminen áreas de trabajo tras la amplificación, abra los tubos o tiras de reacción de PCR solamente en áreas de trabajo designadas.

- 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 con un almacenaje a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ es de 12 meses a partir de la fecha de fabricación. Consulte la etiqueta para conocer la fecha final 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;
C. trachomatis (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP), y *T. vaginalis* (TV)

USO PREVISTO

Allplex™ STI Essential Assay es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección simple o múltiple de *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP) y *T. vaginalis* (TV) en muestra de orina, hisopo genital, citología en medio líquido y semen.

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE EL PROCEDIMIENTO**1. Principios**

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

Allplex™ STI Essential Assay es un ensayo de PCR en tiempo real que permite la amplificación y detección simultánea de los ácidos nucleicos objetivos de *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP), *T. vaginalis* (TV) y Control Interno (IC).

En Allplex™ STI Essential 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 las inconsistencias en la cantidad de células humanas contenidas en la orina, solo se agrega IC de manera exógena a las muestras de orina y se usa como un control exógeno del proceso completo. El IC es coamplificado con ácidos nucleicos objetivo dentro de las muestras clínicas.

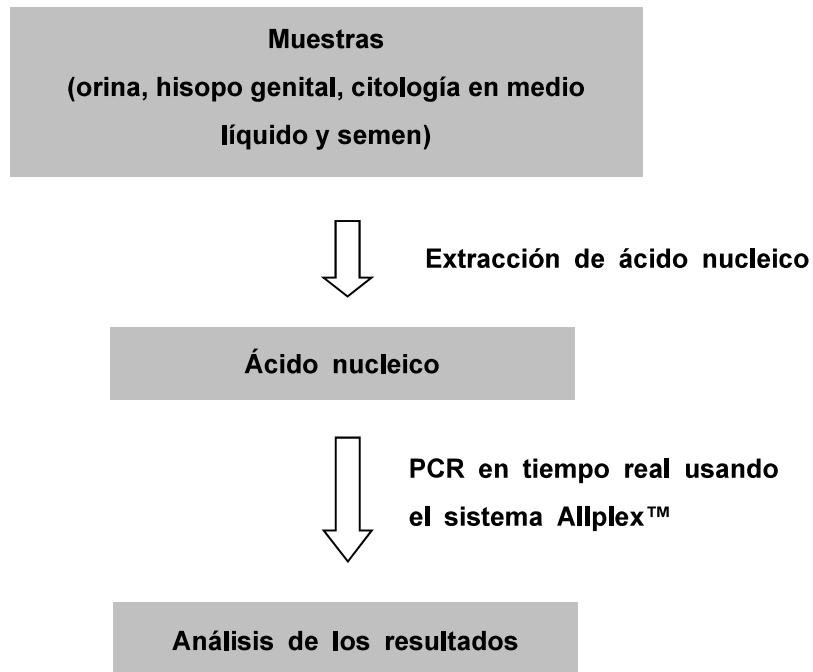
Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, en el Allplex™ STI Essential Assay se utiliza un sistema de Uracil-DNA glicosilasa (UDG).

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Información sobre el procedimiento



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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN GENERAL

Se usa la expresión «enfermedades de transmisión sexual» (STDs) para hacer referencia a una variedad de síndromes clínicos provocados por patógenos que pueden adquirirse y transmitirse a través de la actividad sexual.

Más de 30 patógenos bacterianos, virales y parásitos se transmiten sexualmente y constituyen un grupo de infecciones llamadas infecciones de transmisión sexual (STIs).

Algunas STI pueden aumentar el riesgo de la adquisición de HIV tres veces o más. Las STI pueden tener graves consecuencias más allá del impacto inmediato de la propia infección, a través de la transmisión madre-hijo de las infecciones y enfermedades crónicas.

Más de un millón de personas adquieren una STI todos los días. Cada año, aproximadamente 500 millones de personas se enferman con una de estas cuatro STI: clamidia, gonorrea, sífilis y tricomoniasis.

1. *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis, el agente etiológico de clamidia, provoca una morbilidad sustancial y costes económicos en todo el mundo.

Las infecciones de clamidia entre las mujeres normalmente son asintomáticas. Sin embargo, pueden ocasionar enfermedad inflamatoria pélvica (PID), una de las principales causas de infertilidad, embarazo ectópico y dolor pélvico crónico. Al igual que ocurre con otras STD inflamatorias, la infección de clamidia puede facilitar la transmisión de la infección del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) Además, las mujeres embarazadas infectadas con clamidia pueden pasar la infección a sus hijos durante el parto, provocando potencialmente oftalmía neonatal y neumonía.

2. *Neisseria gonorrhoeae*

La gonorrea es una enfermedad infecciosa muy común. La mayoría de las mujeres con gonorrea son asintomáticas. Si la infección no se detecta, no se trata o se trata de manera inadecuada, puede ascender al tracto genital superior y provocar infección gonocócica complicada (por ejemplo, PID y secuelas relacionadas como embarazo ectópico e infertilidad) entre las mujeres, y edema del pene y epididimitis entre los hombres.

3. *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis es el agente etiológico de la STI no viral más frecuente en todo el mundo. *T. vaginalis* puede provocar un flujo vaginal anormal (tricomoniasis) entre las mujeres y puede ser el responsable de hasta el 10~12% de los casos de uretritis no gonocócica entre los hombres; la infección puede ser asintomática en por lo menos el 50% de las mujeres y el 70~80% de los hombres.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Genital mycoplasmas

M. genitalium y *M. hominis* y las dos especies de ureaplasma *U. urealyticum* (anteriormente conocida como *U. urealyticum*, biovar 2) y *U. parvum* (anteriormente conocida como *U. urealyticum*, biovar 1) son comunes en el tracto urogenital humano.

M. genitalium se identificó por primera vez a principios de 1980 y se ha reconocido como una causa de la uretritis masculina, responsable de aproximadamente el 15~20% de los casos de uretritis no gonocócica (NGU), del 20~25% de uretritis no gonocócica ni clamidial y del 30% de la uretritis periódica o persistente. *M. genitalium* se encuentra en el cuello del útero y el endometrio de las mujeres con PID con más frecuencia que en las que no la tienen.

Las ureaplasmas pueden encontrarse en el cuello del útero o en la vagina del 40~80% de las mujeres asintomáticas sexualmente activas, y *M. hominis* en el 20~50%. Por lo tanto, las ureaplasmas y *M. hominis* deben considerarse en principio como comensales cuando se detecten en el tracto genital bajo. Aunque hay un debate constante, se van acumulando pruebas de que estos microbios causan enfermedades del tracto genital bajo, entre las que se incluyen cervicitis, entre las mujeres. Es importante realizar un diagnóstico preciso de *Ureaplasma* spp. y *Mycoplasma hominis* en las muestras cervicales porque estos microorganismos pueden ser patógenos y pueden asociarse a resultados adversos del embarazo, sepsis postparto, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica neonatal y displasia broncopulmonar.

El patrón actual de atención sanitaria en las pruebas para detectar infecciones de transmisión sexual (STI) implica el uso de pruebas separadas para detectar la presencia de cada posible patógeno. La mayoría de las pruebas comercialmente disponibles se centran solo en detectar las causas bacterianas más frecuentes de las STI: CT y NG. Sin embargo, dado que la mayoría de las STI no muestran síntomas evidentes, es fundamental examinar una mayor variedad de patógenos. Para complicar aún más el diagnóstico de STI, los diferentes patógenos pueden causar síntomas similares, pero el régimen de tratamiento antibiótico puede diferir dependiendo del patógeno. La complejidad de las cuestiones planteadas hace que la detección simultánea y precisa de STI sea un elemento fundamental para el tratamiento rentable del paciente.


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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

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

Información de pedido (**REF** SD9801Y)

Allplex™ STI Essential Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	4X STI-EA 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 +	STI-EA PC	25 µL	Control Positivo (PC) - Mezcla de patógenos y clones
CONTROL IC	ASTI IC	500 µL	Control interno (IC) de 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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ STI Essential 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 puede usarse por 30 días después de su apertura inicial y resiste hasta 5 ciclos de congelación y descongelación sin que el rendimiento se vea afectado. 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
- Centrífuga de sobremesa
- Centrífuga de microplaca
- Mezclador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR 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)*
- Sellador de placa del PCR PX1 (auto-sealer, Núm. cat. 181-4000, Bio-Rad)*
- Solución salina

* Asegúrese de usar la máquina de sellado térmico y el sellador para placas indicados anteriormente juntos.

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

Dr. 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.

Muestras de orina**Muestras de hisopos genitales****Muestras de citología en medio líquido****Semen**

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**Muestras de orina**

- Se debe de 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 (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. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Muestras de citología en medio líquido

- Use el medio citológico en base líquida 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™.

Semen

- Recoja entre orina en un recipiente limpio de polipropileno. Cierre y etiquete el recipiente de la muestra. Siga estrictamente las instrucciones dadas para el almacenamiento y el transporte.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

Muestras	Almacenamiento y transporte		Nota
	Temp.	Duración*	
Muestra de orina	2~8°C	1 semana	- El desempeño 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.
Muestras de hisopo genital	2~8°C	1 semana	
Medio ThinPrep®	2~8°C**	90 días	
	Temperatura ambiente**		
Medio SurePath™	2~8°C	2 semanas	
Semen	2~8°C	1 semana	

* Duración: El período de tiempo desde la recogida de la muestra hasta la prueba, incluido el almacenamiento y el transporte de la muestra antes de la prueba.

** La temperatura óptima de transporte es 2-25°C.

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

Nota: El proceso de tratamiento previo para la extracción de ácido nucleico es el mismo para el sistema de extracción manual y automático (NucliSENS® easyMAG®, SGprep32 y SEEPREP32)

Muestras de hisopos genitales

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

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Muestras de orina y ThinPrep®

Opcional: Se puede omitir el pretratamiento (SGprep32)

Nota: Realizar el proceso de pretratamiento puede mejorar la sensibilidad respecto a la de los casos sin proceso previo al tratamiento (SGprep32).

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19~25°C).
- Centrifugue 1 mL de orina y ThinPrep® durante 15 minutos a 15.000 x g (13.000 rpm).
- Tras desechar el sobrenadante, el sedimento debe resuspenderse en solución salina al volumen recomendado (véase volumen recomendado de 2.C, 2.D) mediante vórtice exhaustivo.
- Siga el protocolo del fabricante.

Muestras SurePath™

- 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).
- Tras desechar el sobrenadante, el sedimento debe resuspenderse en solución salina al volumen recomendado (véase volumen recomendado de 2.C) mediante vórtice exhaustivo.
- Siga el protocolo del fabricante.

Semen

- Establezca el semen durante 30 minutos en la oscuridad hasta que se licue a temperatura ambiente (19-25°C).
- Diluya tres veces con solución salina en el volumen recomendado (Consulte Volumen Recomendado de 2.C, 2.D-1) agitándolo en el vórtex a fondo.
- 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: El ASTI IC está incluido en el kit. 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 deben agregar 10 µL de ASTI IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Kits 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® 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

* Procese la etapa de lisis utilizando 180 µL de ATL Buffer (tampón ATL) en lugar de AL Buffer (tampón AL) en el caso de los medios SurePath™.

** El Ribo_spin vRD kit no es compatible con los medios SurePath™.

*** Si desea comprar los productos de Seegene Inc. incluidos arriba, utilice este número de catálogo.

**** En el caso de muestras de orina, resuspenda el sedimento con 190 µL de solución salina y agregue 10 µL de ASTI IC.

D. Sistema de extracción de ácido nucleico automatizado

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.

D-1. NucliSENS® easyMAG®

- Continúe el proceso de extracción utilizando 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 muestras de orina, vuelva a suspender el sedimento en 200 µL de solución salina y añada 10 µL de ASTI IC.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17303

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

D-2. SGprep32

- Continúe el proceso de extracción utilizando el '**Uni-Protocol A**'.

Sistema de extracción automatizado	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

* Utilice los números de catálogo que se muestran arriba para comprar productos de Seegene Inc.

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

D-2. SEEPREP32

- Continúe el proceso de extracción utilizando 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
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

* En el caso de muestras de orina, vuelva a suspender el sedimento en 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.

E. Resumen

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

1. Sistema NucliSENS® easyMAG®
2. Muestreador cervical Qiagen
3. Procese la etapa de lisis utilizando 180 µL de ATL Buffer (tampón ATL) en lugar de AL Buffer (tampón AL) en el caso de los medios SurePath™.

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

Dra. MARINA 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 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.

A. Prepare la PCR Mastermix.

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

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

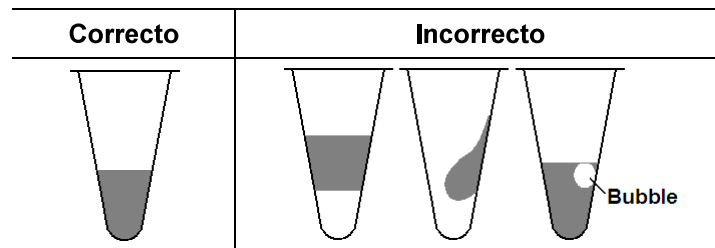
E. Cierre la tapa y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

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.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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 STI-EA PC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

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

Nota: No etiquete la tapa de los tubos de reacción, ya que la fluorescencia se detecta desde la parte superior de la tapa.

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 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)**.

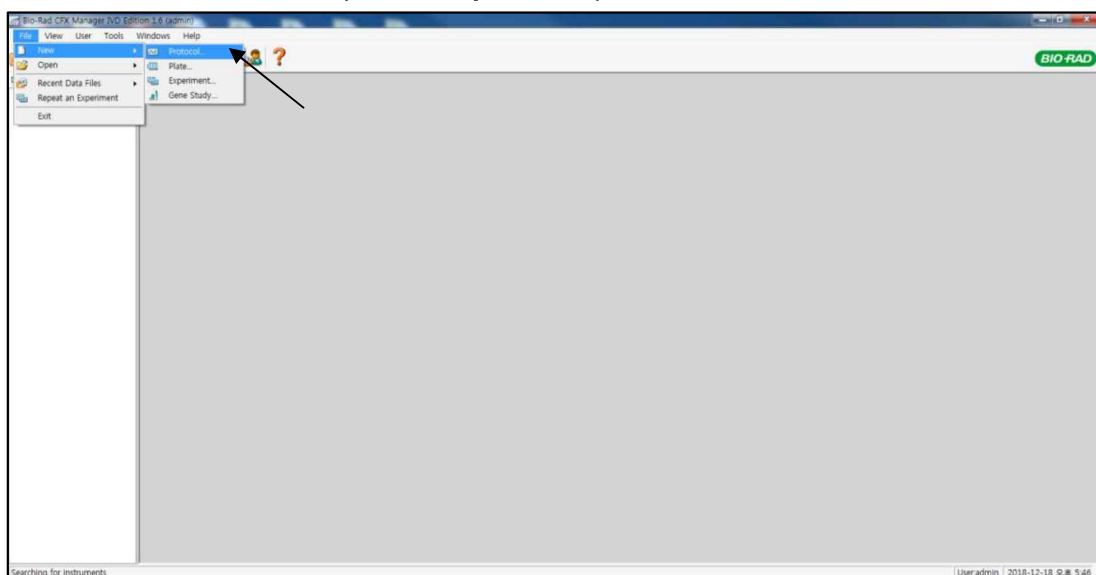


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

Paso	No. de ciclos	Temp.	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 (VAYA AL) Paso 3, 4 veces más.		
7	40	95°C	10 seg
8*		60°C	1 min
9*		72°C	10 seg
10	GOTO (VAYA AL) Paso 7, 39 veces más.		

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

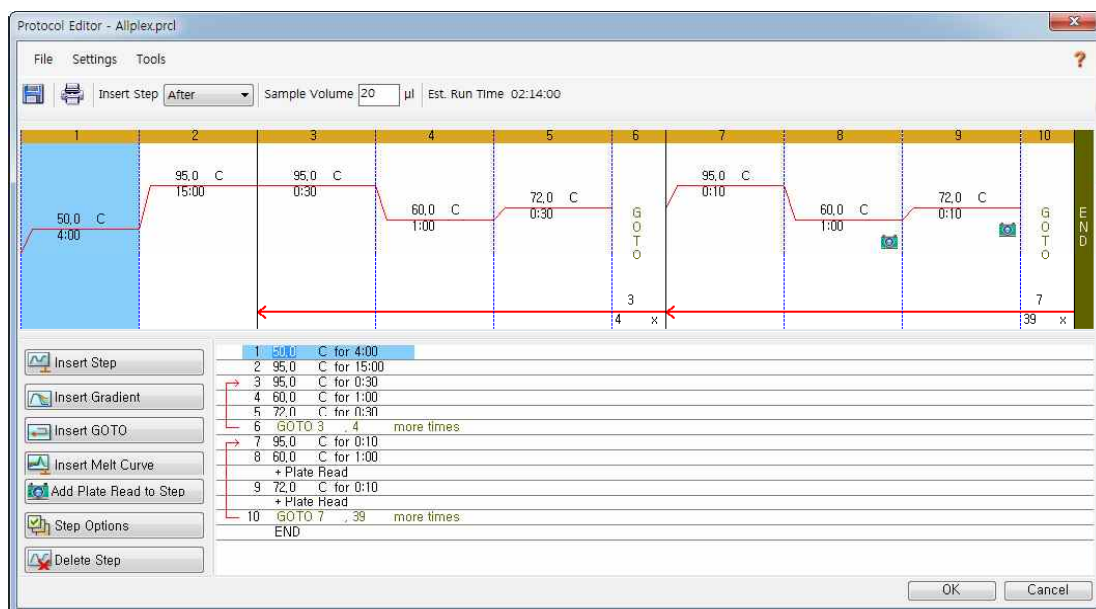


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

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)**.

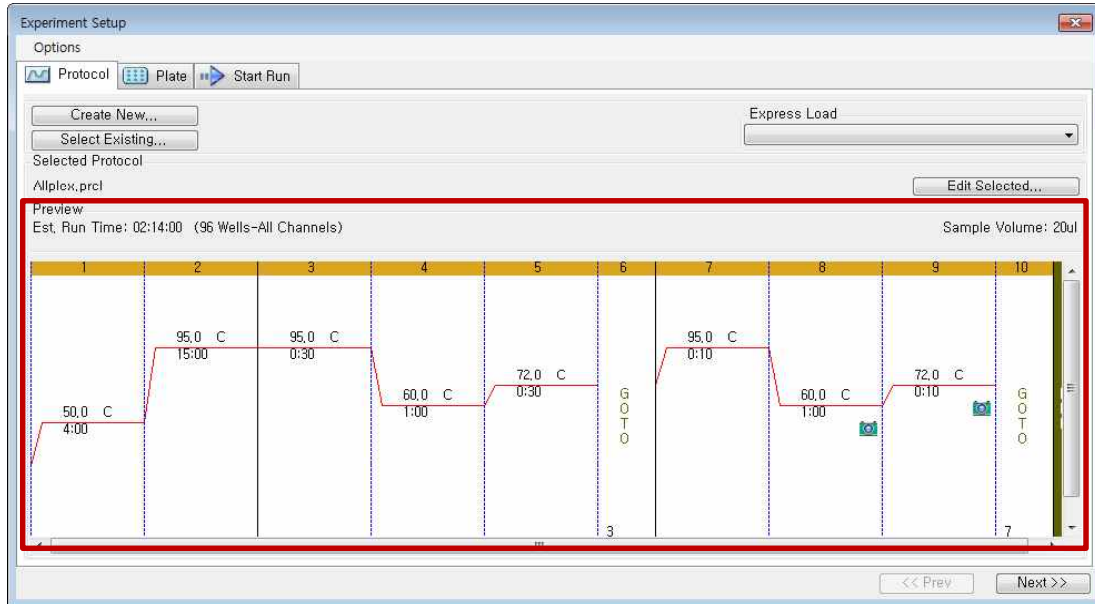


Fig. 3. **Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)**

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)**.

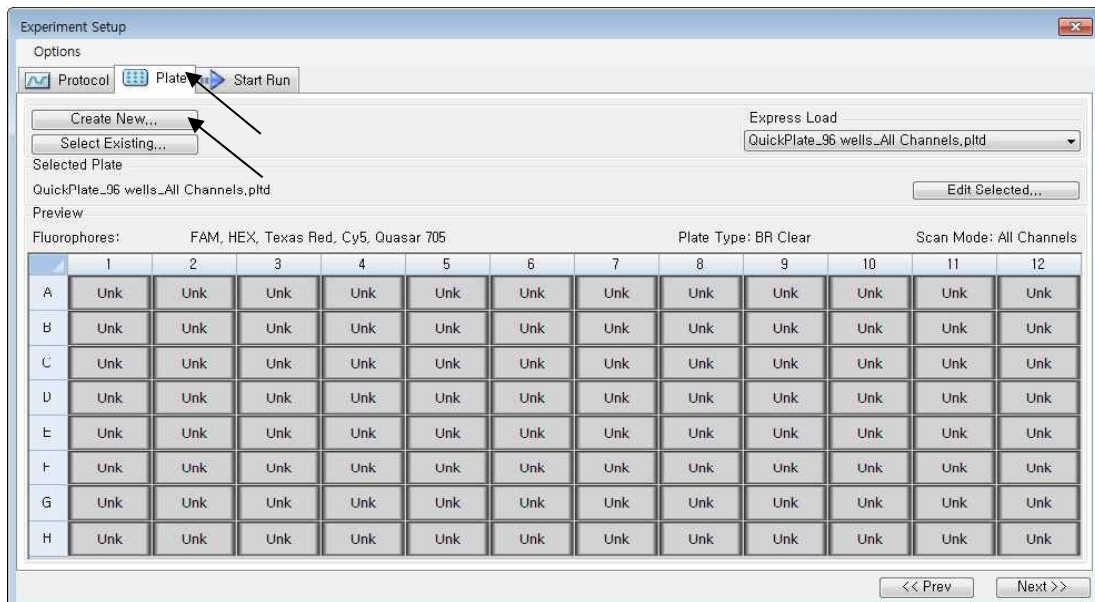


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placa)**

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)**.

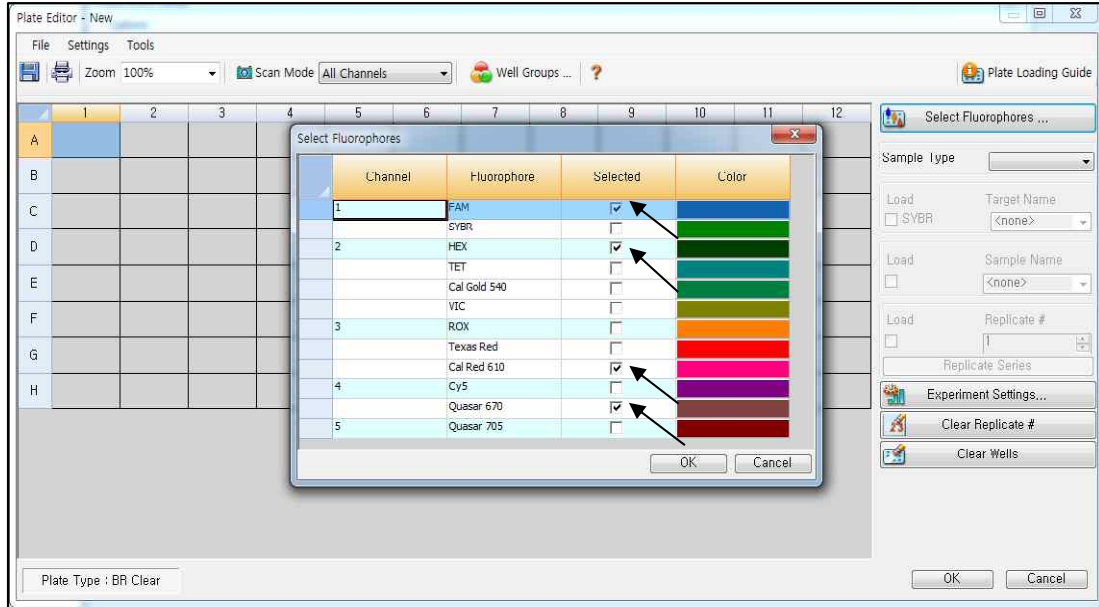


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**)

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 (Tamaño de la placa) (96 wells (96 pocillos))** y **Plate Type (Tipo de placa) (BR White (Blanco BR))**.

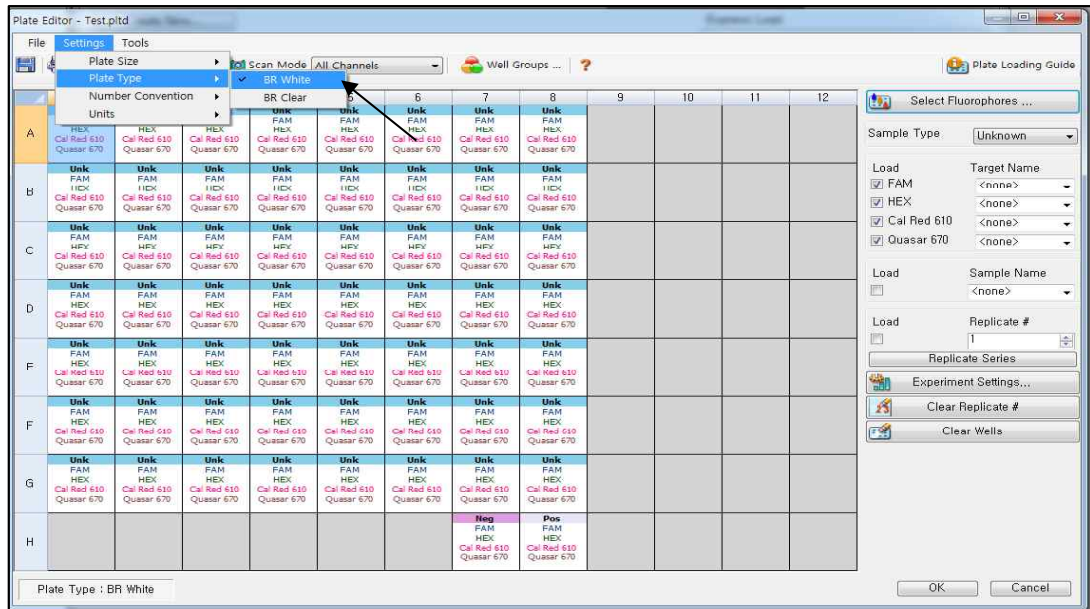


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

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

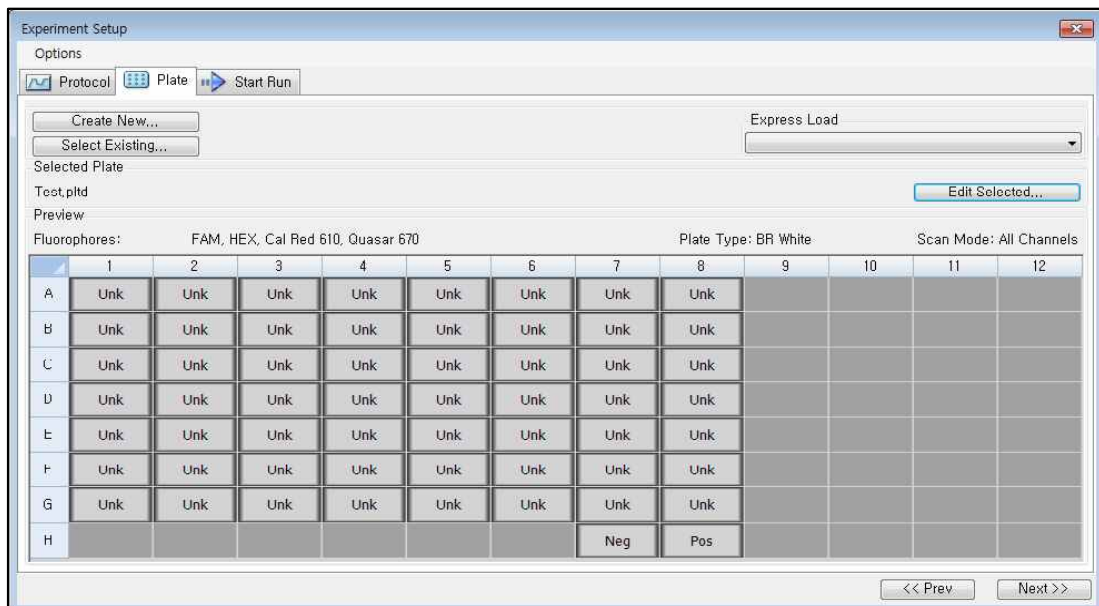


Fig. 7. Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para ir a Start Run (Iniciar Ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

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

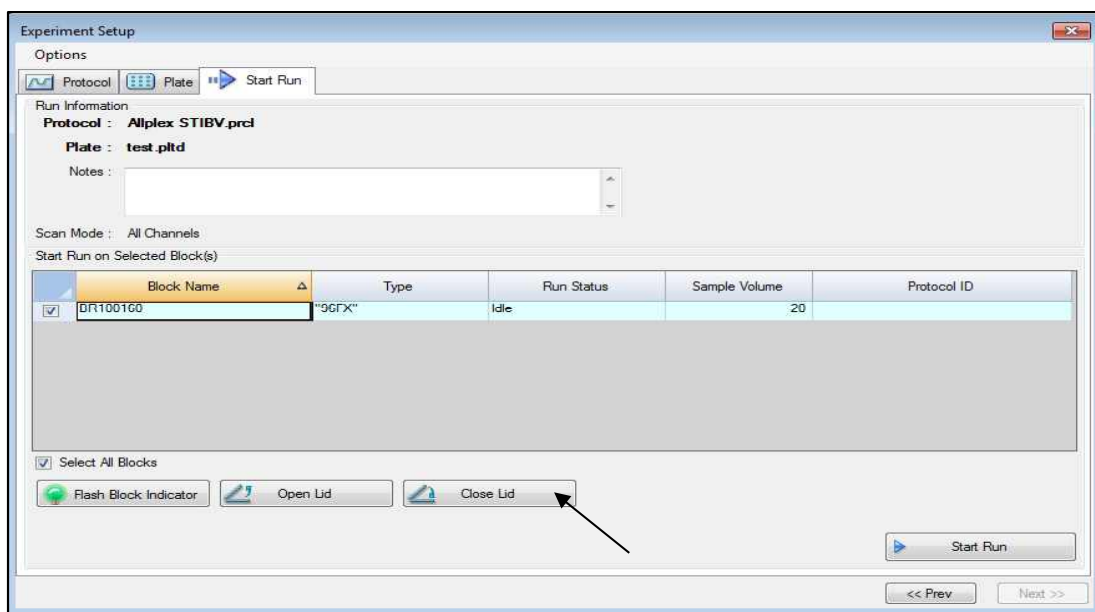


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

- 2) Haga clic en **Start Run (Inicio de ejecución)**.
- 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 (Exportación 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. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

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

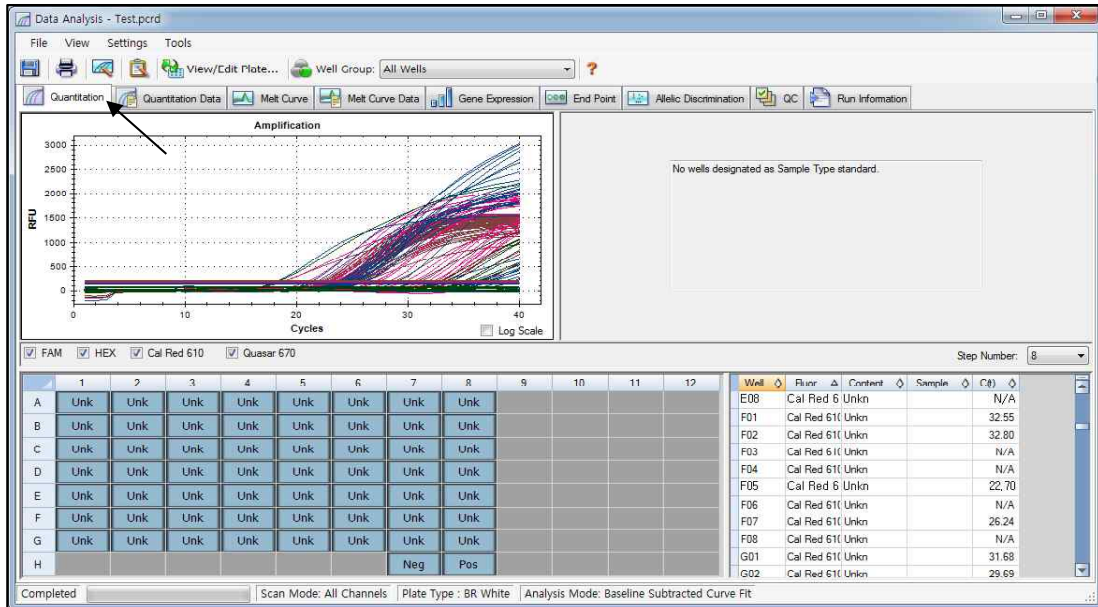


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

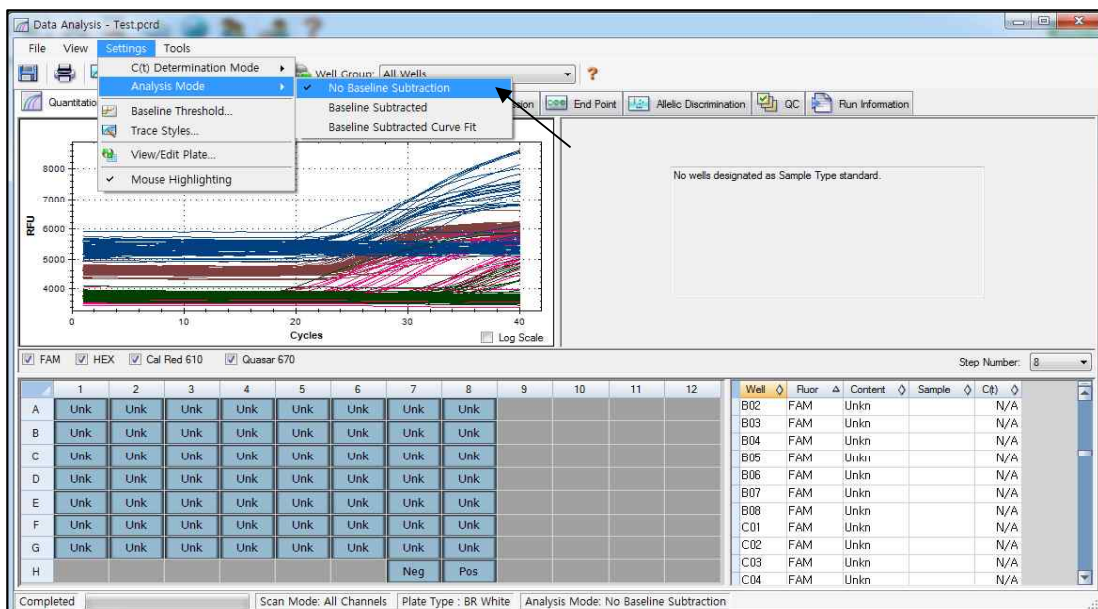


Fig. 10. No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)

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

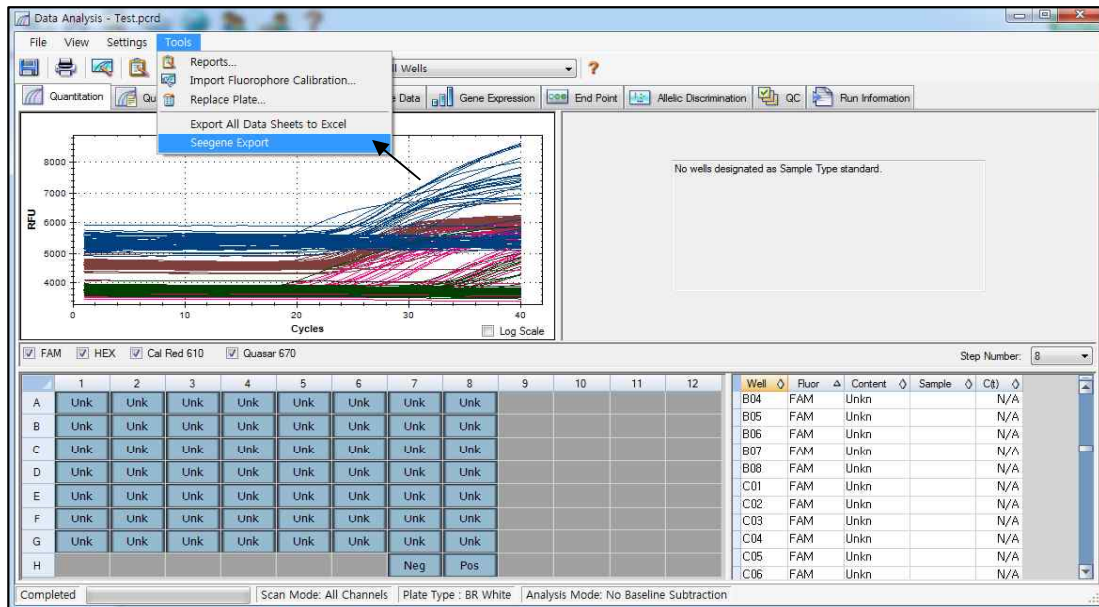


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación Seegene)**

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

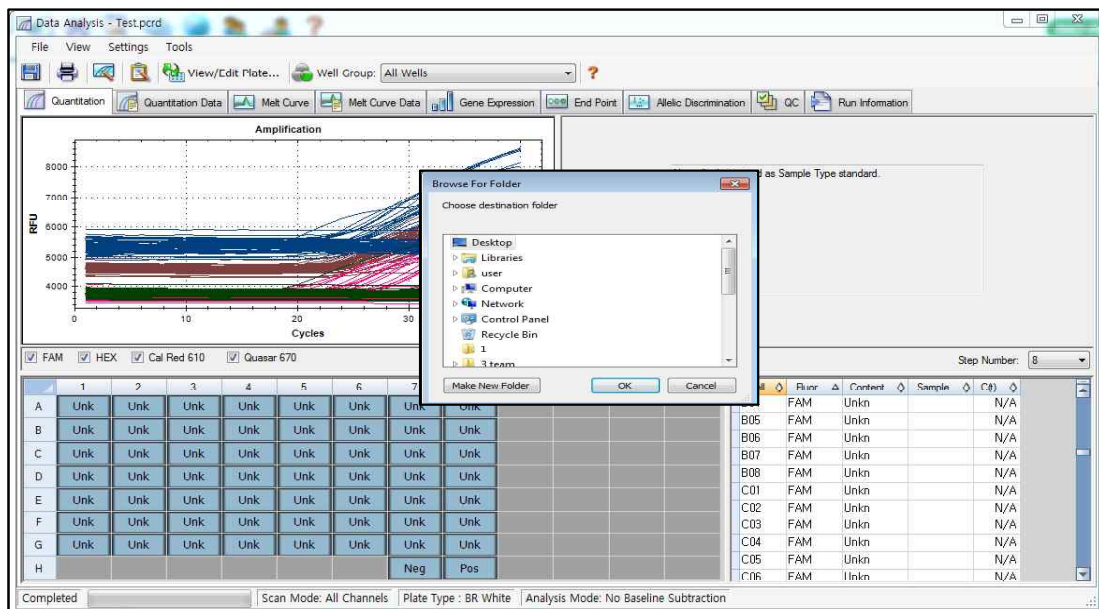


Fig. 12. **Seegene Export (Exportación Seegene) a la carpeta indicada**

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Configure el análisis de datos en Seegene Viewer

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

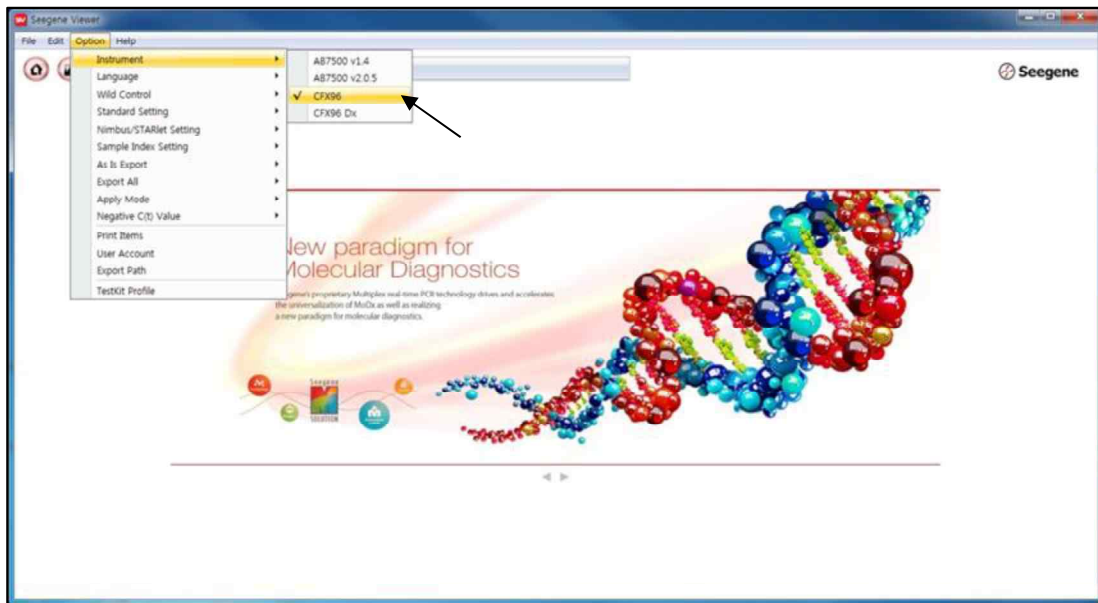


Fig. 13. Seegene Viewer

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)**.

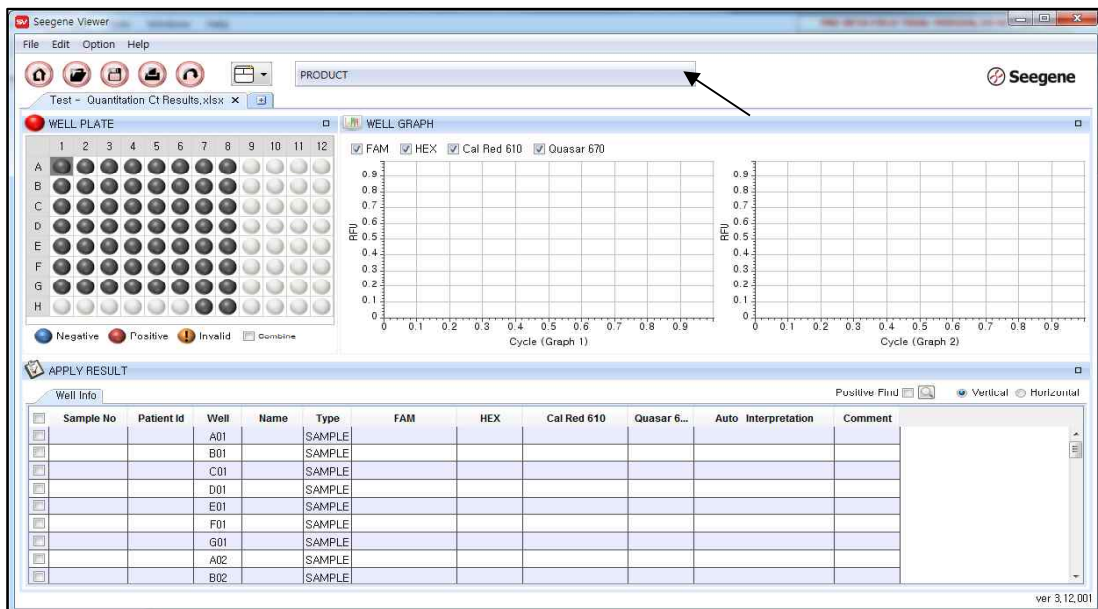


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

Nota: verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit de prueba (8 strip / 96 cap / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

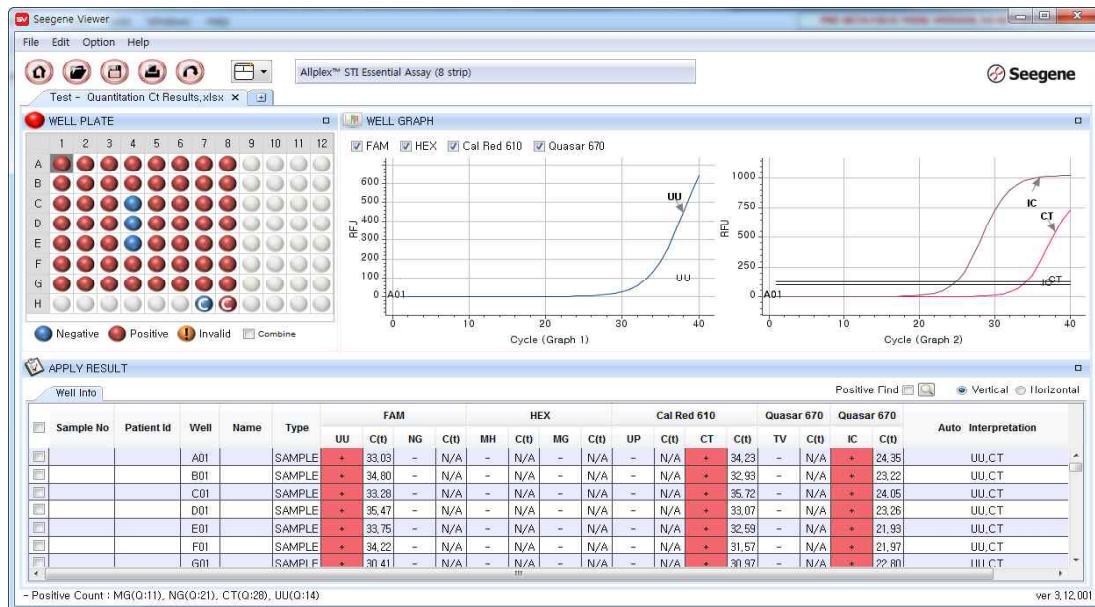


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

4) Criterios de validación de los resultados del control

a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez de los experimentos, las pruebas de PCR deben ir acompañadas de PC (Control Positivo) y NC (Control Negativo). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

Control	Resultado de Seegene Viewer									Interpretación automática
	FAM (C _i)		HEX (C _i)		Cal Red 610 (C _i)			Quasar670 (C _i)		
	UU	NG	MH	MG	UP	CT	TV	IC		
Control Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Control Positivo(+)
Control Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo(-)

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos de falla en la validación, los resultados no se deben interpretar ni notificar. Y se debe repetir la reacción del PCR.

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 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)**.

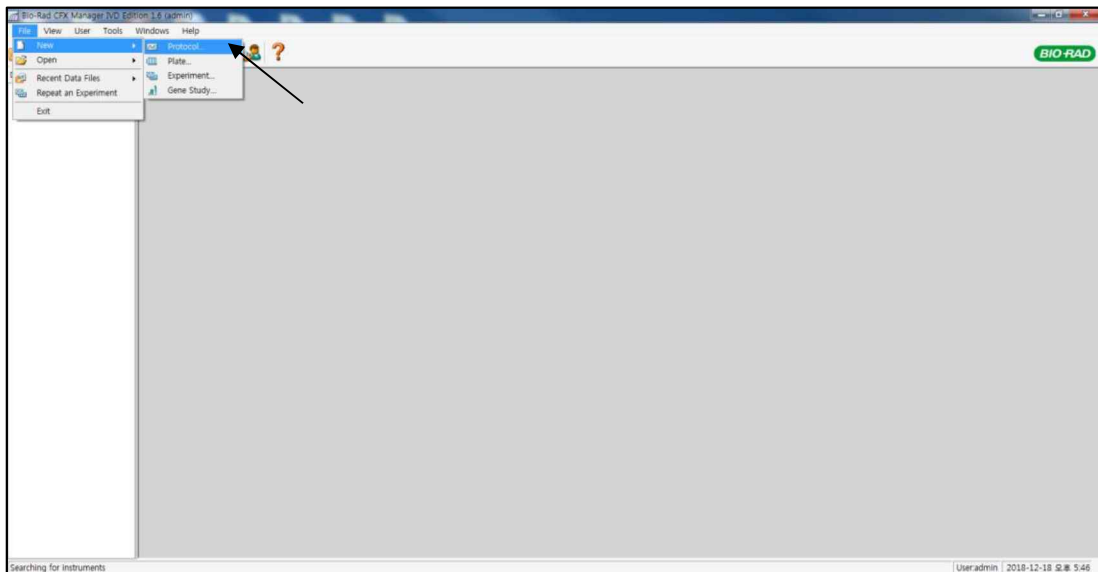


Fig. 1. **Protocol Setup (Configuración del protocolo)**. Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para iniciar el ciclo

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

Dr. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

Paso	No. de ciclos	Temp.	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 (VAYA AL) Paso 3, 4 veces más.		
7		95°C	10 seg	
8*	40	60°C	1 min	
9*		72°C	10 seg	
10		GOTO (VAYA AL) Paso 7, 39 veces más.		

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

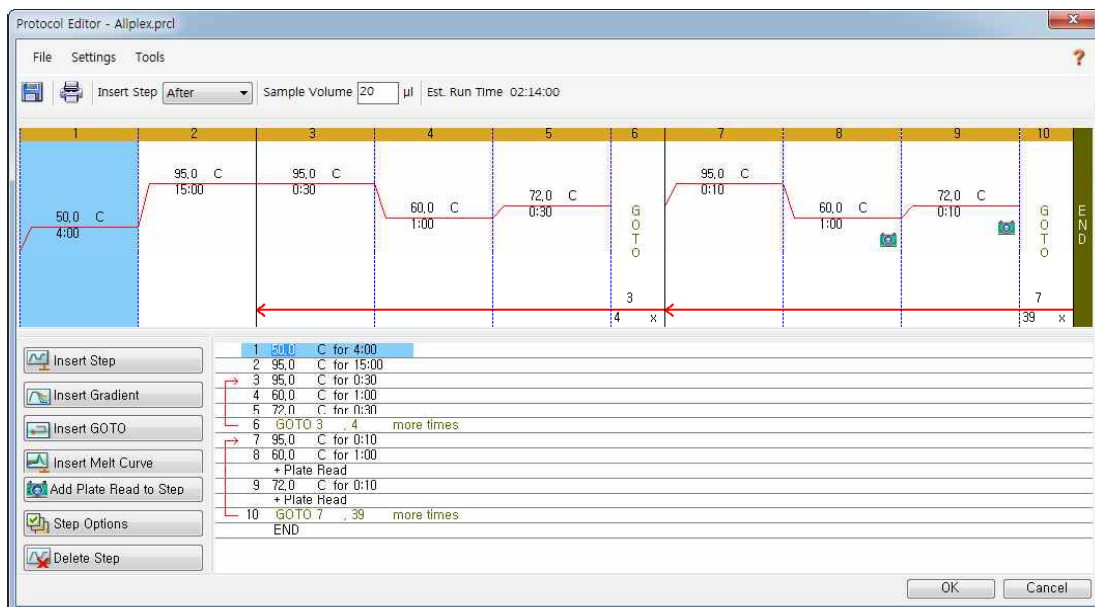


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

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 **Run Setup (Configuración de Ejecución)**.

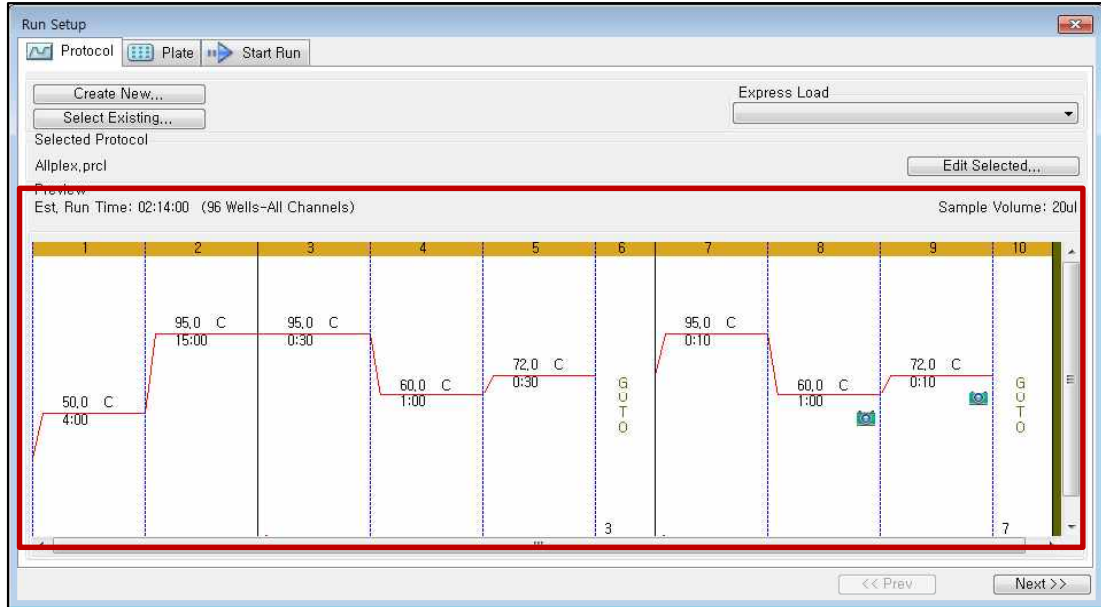


Fig. 3. Run Setup (Configuración de Ejecución): Protocol (Protocolo)

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) Desde la pestaña **Plate (Placa)** del menú **Run Setup (Configuración de Ejecución)**, haga clic en **Create New (Crear Nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de Placas)**.

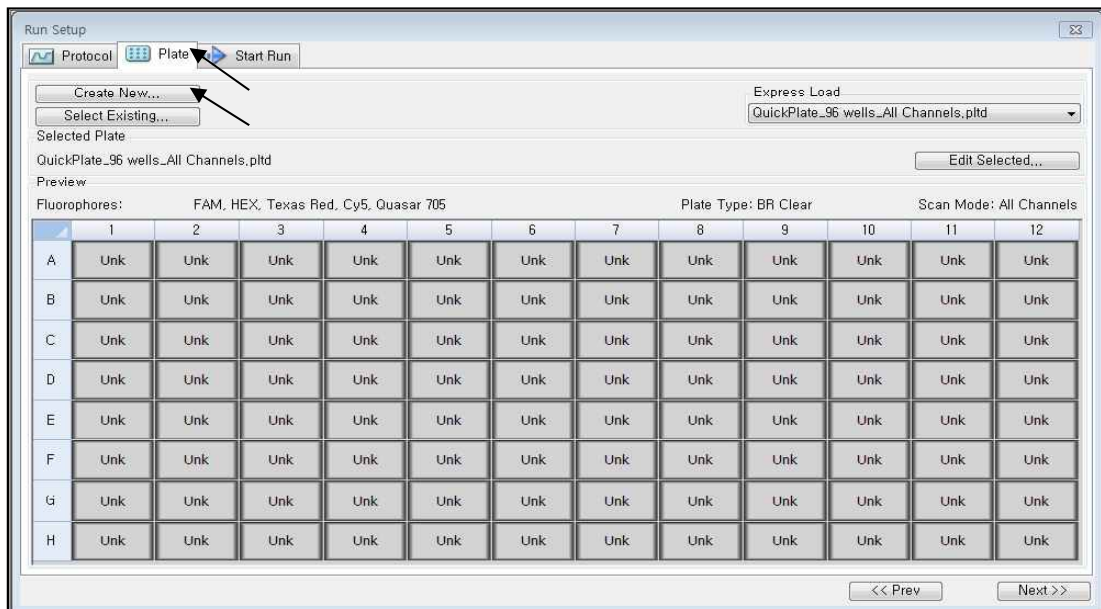


Fig. 4. Plate Editor (Editor de placa). Crear una nueva placa

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)**.

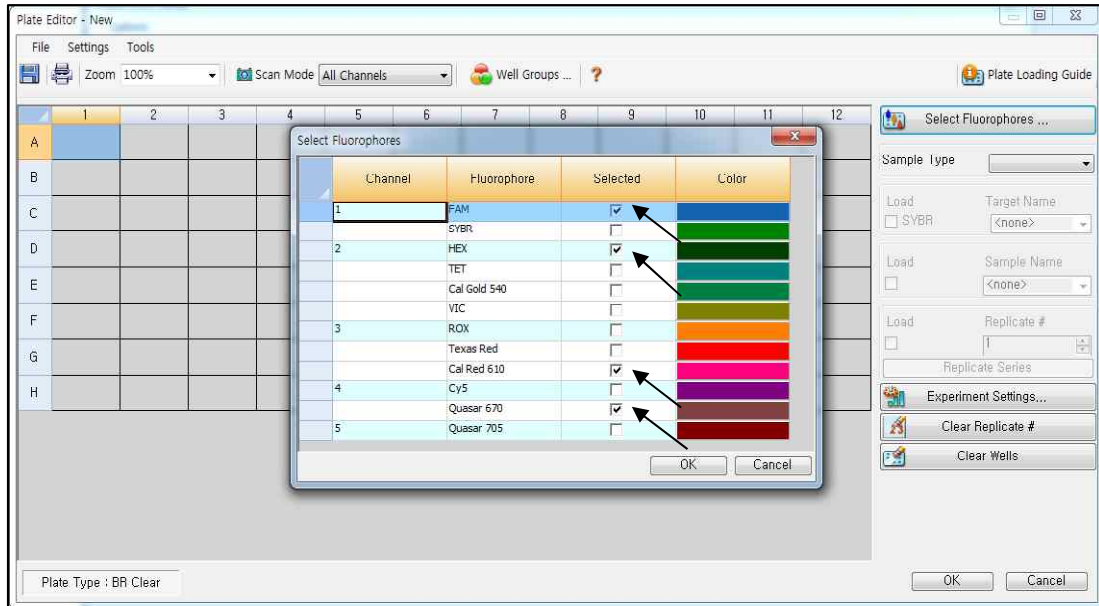


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**)

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 (Tamaño de la placa) (96 wells (96 pocillos))** y **Plate Type (Tipo de placa) (BR White (Blanco BR))**.

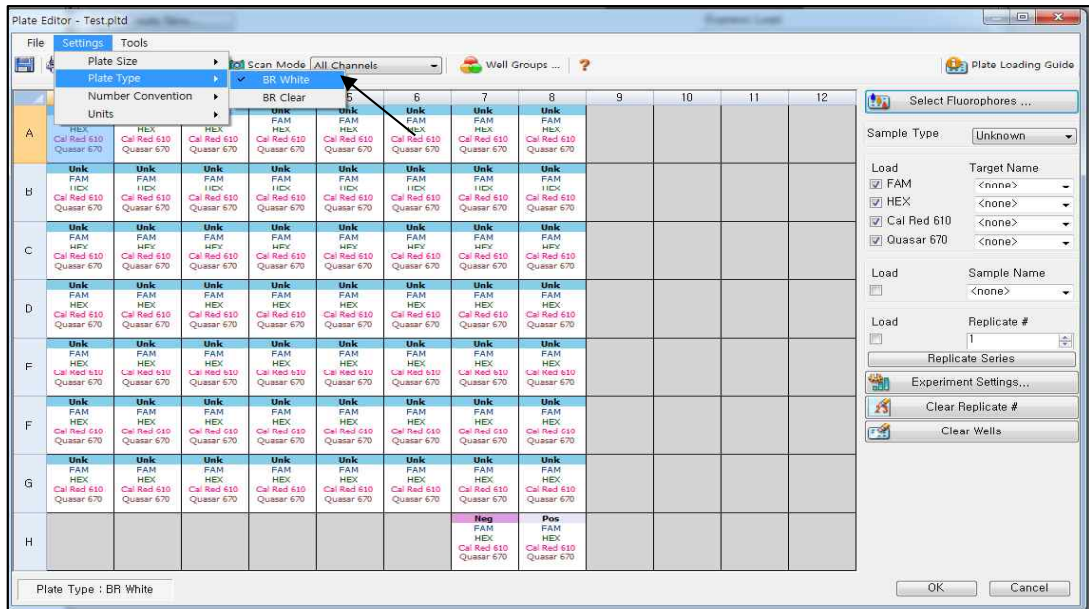


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

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

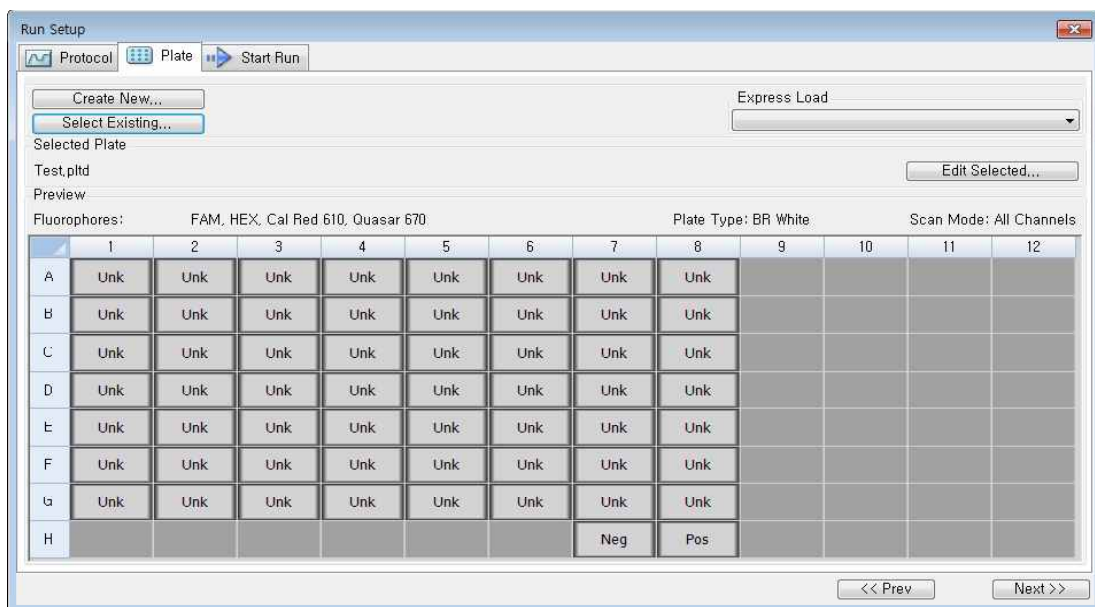


Fig. 7. Run Setup (Configuración de Ejecución): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiente)** para ir a Start Run (Iniciar Ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) Desde la pestaña **Start Run (Iniciar Ciclo)** en **Run Setup (Configuración de Ciclo)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar Tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

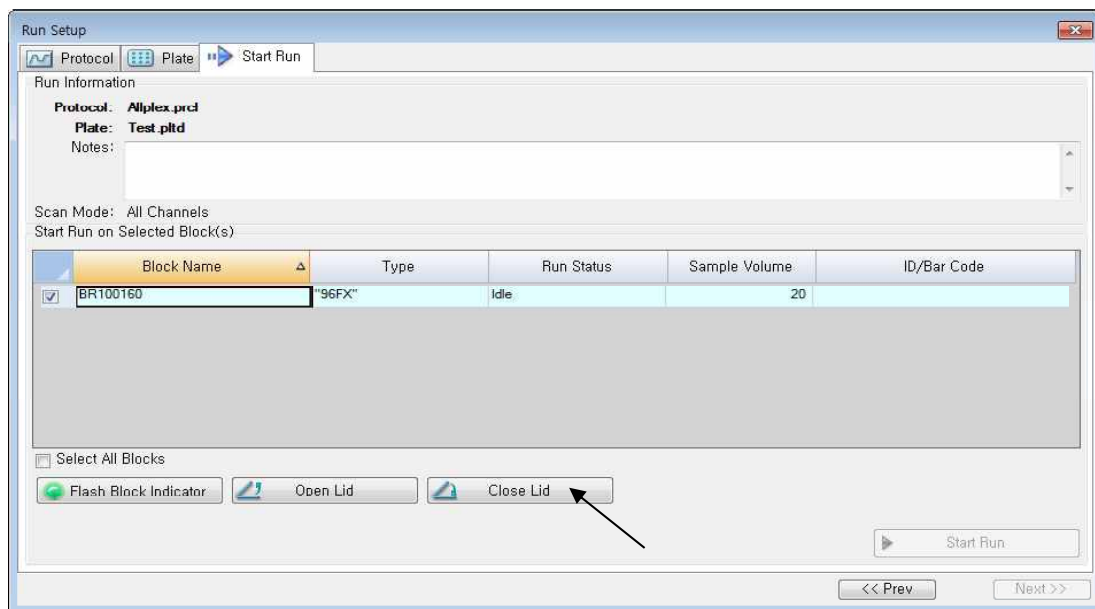


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

- 2) Haga clic en **Start Run (Inicio de ejecución)**.
- 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 (Exportación 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. MARIANA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Configuraciones predeterminadas para análisis de datos en el CFX Manager™

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

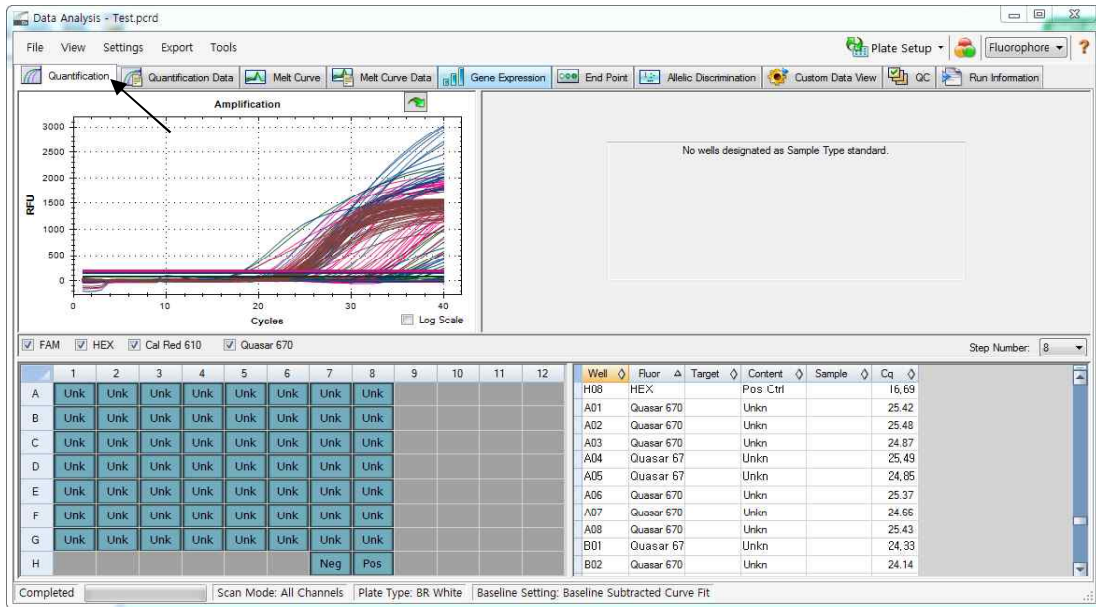


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

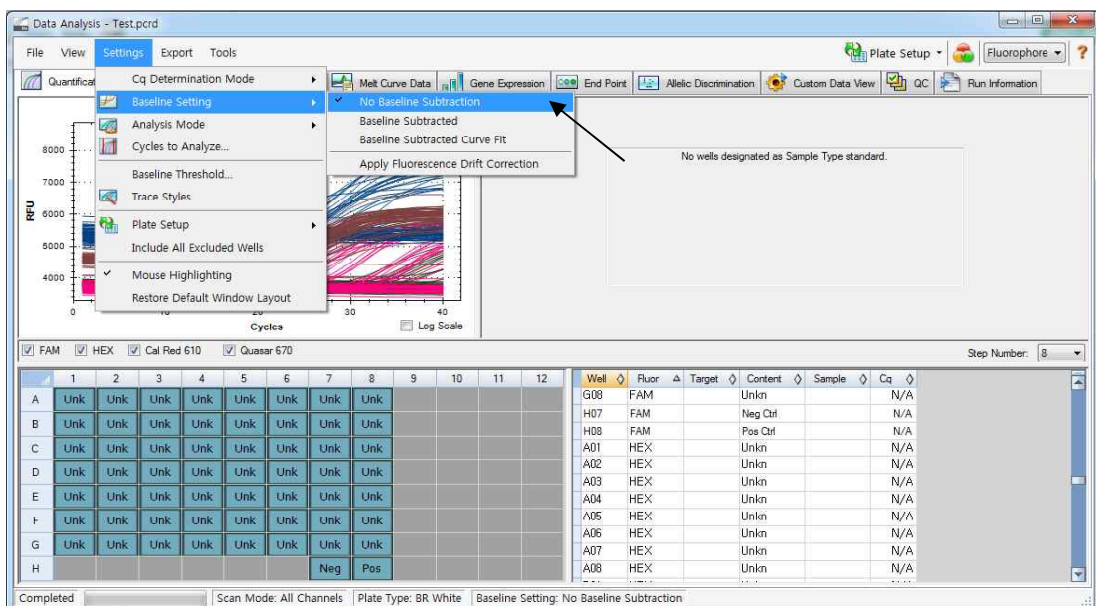


Fig. 10. No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación Seegene)** del menú **Export (Exportar)**.

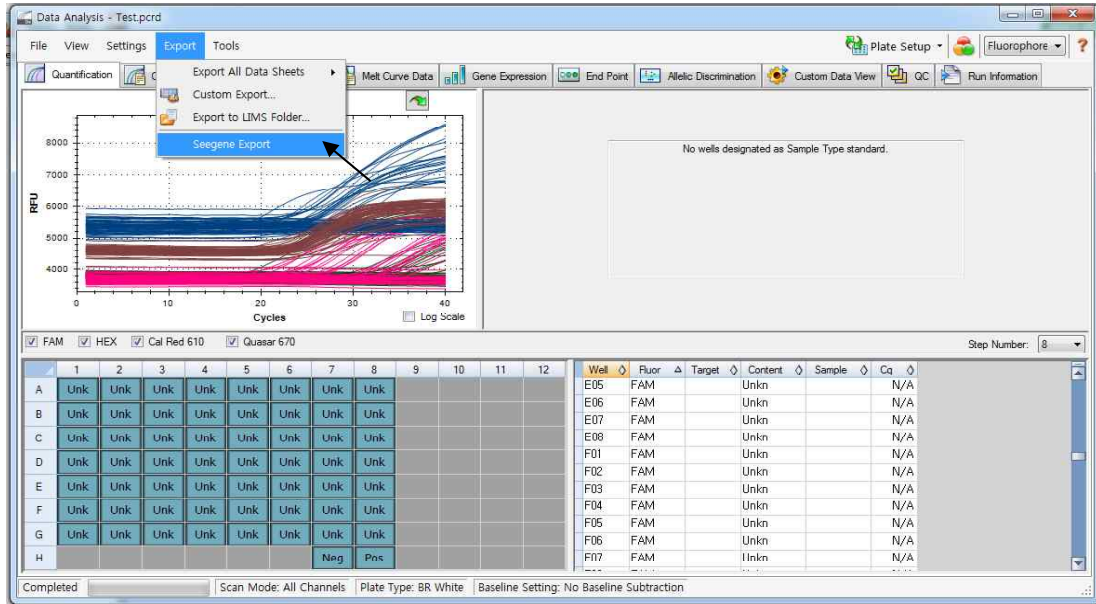


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación Seegene)**

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

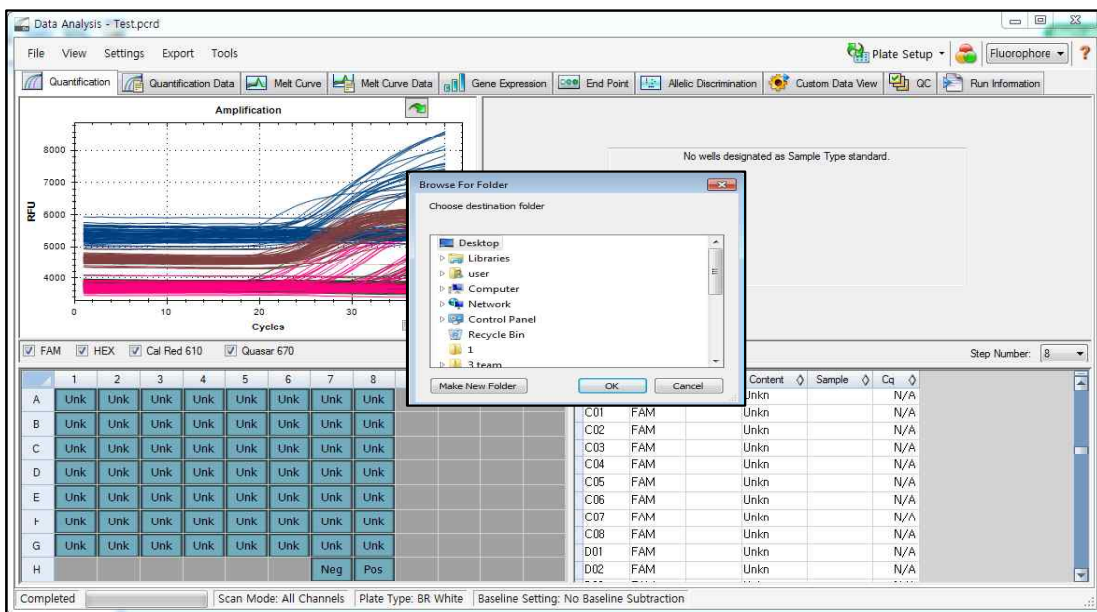


Fig. 12. **Seegene Export (Exportación Seegene) a la carpeta indicada**

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

C. Configure el análisis de datos en Seegene Viewer

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

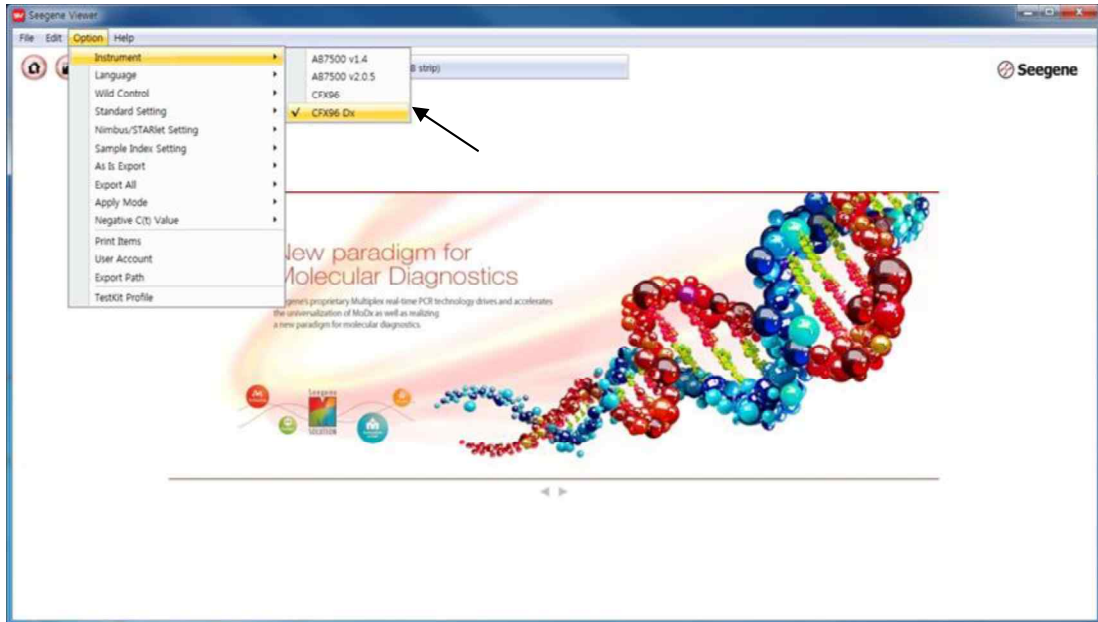


Fig. 13. Seegene Viewer

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)**.

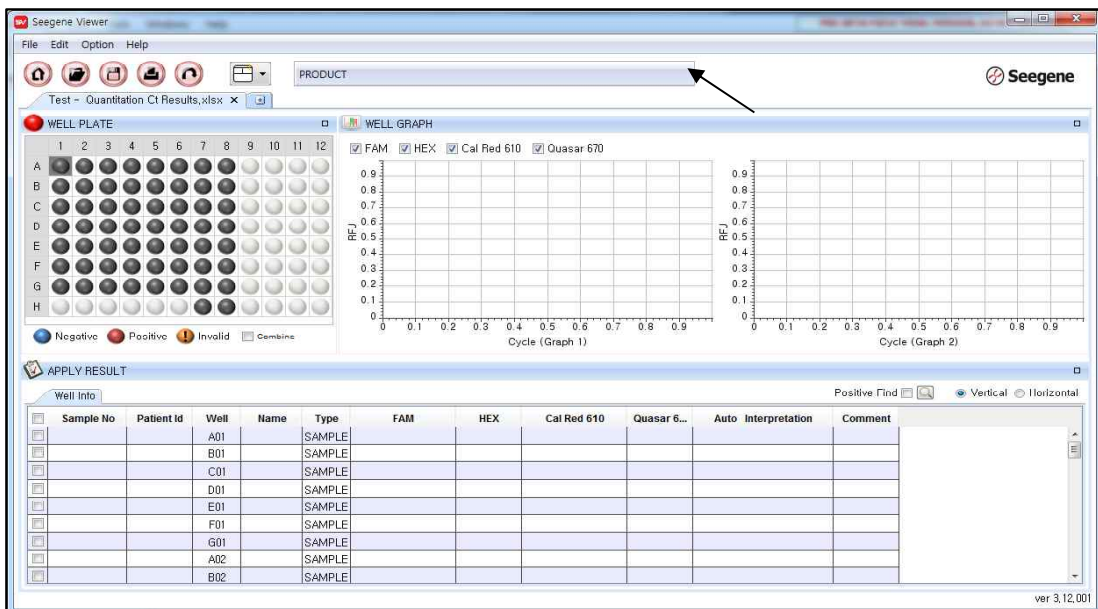


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

Nota: verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit de prueba (8 strip / 96 cap / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

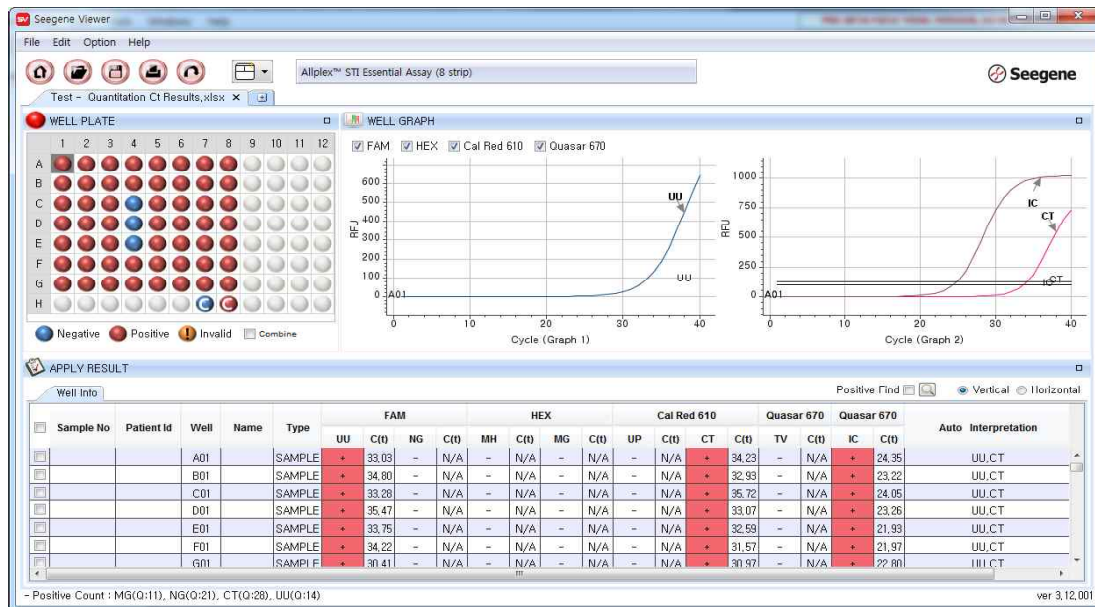


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

4) Criterios de validación de los resultados del control

a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez de los experimentos, las pruebas de PCR deben ir acompañadas de PC (Control Positivo) y NC (Control Negativo). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

Control	Resultado de Seegene Viewer								Interpretación automática
	FAM (C _i)		HEX (C _i)		Cal Red 610 (C _i)		Quasar670 (C _i)		
	UU	NG	MH	MG	UP	CT	TV	IC	
Control Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Control Positivo(+)
Control Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo(-)

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos de falla en la validación, los resultados no se deben interpretar ni notificar. Y se debe repetir la reacción del PCR

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	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (UU)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (NG)
HEX	<i>Mycoplasma hominis</i> (MH)	<i>Mycoplasma genitalium</i> (MG)
Cal Red 610	<i>Ureaplasma parvum</i> (UP)	<i>Chlamydia trachomatis</i> (CT)
Quasar 670	<i>Trichomonas vaginalis</i> (TV)	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. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Resultado Objetivo		Resultado IC	Interpretación
Gráfico 1	Gráfico 2		
+	-	+	Ácido nucleico objetivo, Detectado
-	+		
+	+		
+	-	-	Ácido nucleico objetivo, Detectado* - Los objetivos adicionales de STI que no se han detectado pueden estar presentes.
-	+		
+	+		
-	-	+	Ácido nucleico objetivo, no detectado
-	-	-	No válido** - Una señal negativa de IC sugiere la recolección o el procesamiento inadecuado de muestras o la 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.

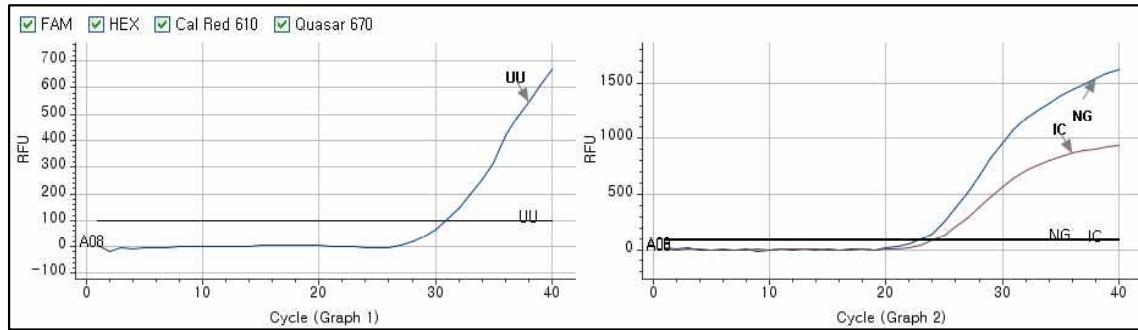
** Si no se observa ninguna de las señales que incluyan el Control Interno, véase SOLUCIÓN DE PROBLEMAS.

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

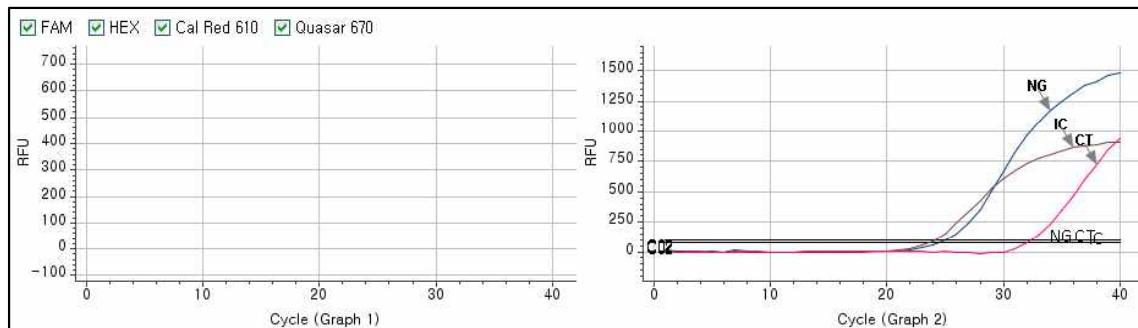
Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Aplicación a muestras clínicas

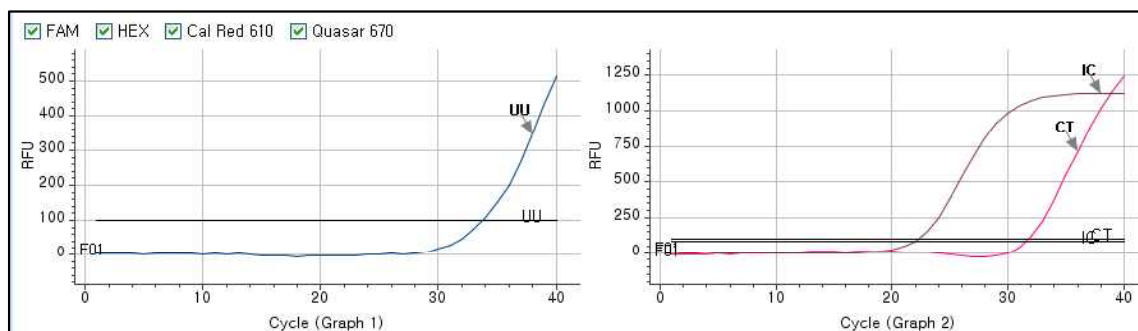
Muestra 1



Muestra 2



Muestra 3



Muestra	FAM				HEX				Cal Red 610				Quasar 670		Quasar 670		Interpretación Automática
	UU	C(t)	NG	C(t)	MH	C(t)	MG	C(t)	UP	C(t)	CT	C(t)	TV	C(t)	IC	C(t)	
1	+	30,96	+	23,19	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	23,97	UU,NG
2	-	N/A	+	25,09	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	32,42	-	N/A	+	23,76	NG,CT
3	+	33,76	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,80	-	N/A	+	21,82	UU,CT

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ STI Essential Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
No se observa señal	Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo.	Seleccione los fluoróforos correctos 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 se debe a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra original o puede diluir la muestra con solución salina 1/3~1/10 veces y luego agregar ASTI IC a la muestra diluida. ASTI IC debe usarse solo para 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) 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™ STI Essential 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™ STI Essential Assay viene garantizada por los oligos diseñados específicamente para los objetivos de interés según las condiciones de reacción definidas. Allplex™ STI Essential Assay se probó para la reactividad cruzada de 123 patógenos diferentes, y la detección y amplificación de PCR solo se identificaron en los objetivos especificados.

Núm	Organismo	Fuente	Núm. aislado	Resultado†
1	Chlamydia trachomatis	ATCC	VR-1500	CT Detectado
2	Chlamydia trachomatis (LGV I)	ATCC	VR-901BD	CT Detectado
3	Chlamydia trachomatis (LGV II)	ATCC	VR-902BD	CT Detectado
4	Chlamydia trachomatis (LGV III)	ATCC	VR-903D	CT Detectado
5	Chlamydia trachomatis (serovar A)	ATCC	VR-571B	CT Detectado
6	Chlamydia trachomatis (serovar B)	ATCC	VR-573	CT Detectado
7	Chlamydia trachomatis (serovar Ba)	ATCC	VR-347	CT Detectado
8	Chlamydia trachomatis (serovar C)	ATCC	VR-1477	CT Detectado
9	Chlamydia trachomatis (serovar D)	ATCC	VR-885	CT Detectado
10	Chlamydia trachomatis (serovar E)	ATCC	VR-348B	CT Detectado
11	Chlamydia trachomatis (serovar F)	ATCC	VR-346	CT Detectado
12	Chlamydia trachomatis (serovar G)	ATCC	VR-878	CT Detectado
13	Chlamydia trachomatis (serovar H)	ATCC	VR-879	CT Detectado
14	Chlamydia trachomatis (serovar I)	ATCC	VR-880	CT Detectado
15	Chlamydia trachomatis (serovar J)	ATCC	VR-886	CT Detectado
16	Chlamydia trachomatis (serovar K)	ATCC	VR-887	CT Detectado
17	Mycoplasma genitalium	ATCC	33530	MG Detectado
18	Mycoplasma hominis	ATCC	15488	MH Detectado
19	Neisseria gonorrhoeae	ATCC	700825	NG Detectado
20	Neisseria gonorrhoeae	NCTC	13798	NG Detectado
21	Neisseria gonorrhoeae	NCTC	13800	NG Detectado
22	Trichomonas vaginalis	ATCC	30238	TV Detectado
23	Ureaplasma parvum	ATCC	27815	UP Detectado
24	Ureaplasma urealyticum	ATCC	27813	UU Detectado

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

25	Atopobium vaginae	KCTC	15240	No detectado
26	Acinetobacter baumannii	KCCM	35401	No detectado
27	Acinetobacter schindleri	KCTC	12409	No detectado
28	Acinetobacter ursingii	KCTC	12410	No detectado
29	Atopobium parvulum	KCOM	1530	No detectado
30	Bacteroides caccae	ATCC	43185	No detectado
31	Bacteroides fragilis	KCTC	5013	No detectado
32	Bacteroides ovatus	KCTC	5827	No detectado
33	Bacteroides vulgatus	ATCC	8482	No detectado
34	Bacteroides xylanisolvens	KCOM	3242	No detectado
35	Bifidobacterium adolescentis	KCTC	3216	No detectado
36	Bifidobacterium longum	KCTC	3421	No detectado
37	Bifidobacterium minimum	KCTC	3273	No detectado
38	Candida albicans	ATCC	10231D-5	No detectado
39	Candida dubliniensis	KCTC	17427	No detectado
40	Candida glabrata	KCCM	50044	No detectado
41	Candida krusei	KCCM	11426	No detectado
42	Candida lusitanae	KCCM	50541	No detectado
43	Candida orthopsilosis	ATCC	96139	No detectado
44	Candida parapsilosis	KCTC	7653	No detectado
45	Candida tropicalis	KCCM	32008	No detectado
46	Candida metapsilosis	ATCC	96144D	No detectado
47	Chlamydomphila pneumoniae	ATCC	VR-1310	No detectado
48	Chlamydomphila psittaci	Vircell	MBC013	No detectado
49	Clostridium difficile (Toxin A+ / B+)	NCTC	11209	No detectado
50	Clostridium perfringens	KCTC	3269	No detectado
51	Cytomegalovirus (CMV)	NIBSC	09/162	No detectado
52	Enterococcus avium	ATCC	14025	No detectado
53	Epstein Barr Virus	ATCC	VR-1492	No detectado
54	Escherichia coli	ATCC	25922	No detectado
55	Gardnerella vaginalis	KCTC	5096	No detectado
56	Haemophilus ducreyi	ATCC	700724D-5	No detectado
57	Haemophilus influenzae	KCTC	15481	No detectado
58	Hepatitis A virus (HAV)	ATCC	VR-1541	No detectado

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

59	Hepatitis B virus (HBV)	ATCC	VR-3232SD	No detectado
60	Hepatitis C virus (HCV)	ATCC	VR-3233SD	No detectado
61	Human herpesvirus 1	KBPV	VR-1493	No detectado
62	Human herpesvirus 2	KBPV	VR-734	No detectado
63	Human herpesvirus 3	ATCC	VR-1367	No detectado
64	Human Papilloma Virus 16	KCLB	30035	No detectado
65	Human Papilloma Virus 16	KCLB	21550	No detectado
66	Human Papilloma Virus 18	KCLB	10002	No detectado
67	Lactobacillus acidophilus	KCTC	3140	No detectado
68	Lactobacillus amylovorus	KCTC	3179	No detectado
69	Lactobacillus brevis	KCTC	3498	No detectado
70	Lactobacillus casei	KCTC	3260	No detectado
71	Lactobacillus crispatus	KCTC	5054	No detectado
72	Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii	KCTC	13730	No detectado
73	Lactobacillus fermentum	KCTC	3112	No detectado
74	Lactobacillus gallinarum	KCTC	5048	No detectado
75	Lactobacillus gasseri	KCTC	3163	No detectado
76	Lactobacillus helveticus	KCTC	15060	No detectado
77	Lactobacillus iners	CCARM	0123	No detectado
78	Lactobacillus intestinalis	KCTC	5052	No detectado
79	Lactobacillus jensenii	KCTC	5194	No detectado
80	Lactobacillus johnsonii	KCTC	3801	No detectado
81	Lactobacillus kefirifaciens	KCTC	5075	No detectado
82	Lactobacillus oris	KCCM	40993	No detectado
83	Lactobacillus parabuchneri	KCTC	3503	No detectado
84	Lactobacillus pentosus	KCTC	3120	No detectado
85	Lactobacillus plantarum	ATCC	700934	No detectado
86	Lactobacillus reuteri	KCTC	3594	No detectado
87	Lactobacillus rhamnosus	KCCM	32405	No detectado
88	Lactobacillus salivarius subsp. Salicinius	KCTC	3600	No detectado
89	Lactobacillus sanfranciscensis	KACC	12431	No detectado
90	Lactobacillus ultunensis	KCTC	5857	No detectado
91	Lactobacillus vaginalis	KCTC	3515	No detectado
92	Mobiluncus curtisii	ATCC	35241	No detectado

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

93	Mobiluncus mulieris	ATCC	35243	No detectado
94	Mycoplasma arginini	ATCC	23838	No detectado
95	Mycoplasma felis Cole et al.	ATCC	23391	No detectado
96	Mycoplasma iowae Jordan et al.	ATCC	33552	No detectado
97	Mycoplasma leonicaptivi Hill	ATCC	49890	No detectado
98	Mycoplasma pneumonia	ATCC	15531	No detectado
99	Mycoplasma pulmonis	ATCC	19612	No detectado
100	Mycoplasma spumans	ATCC	19526	No detectado
101	Neisseria cinerea	ATCC	14685	No detectado
102	Neisseria flavescens	CCARM	9264	No detectado
103	Neisseria lactamica	ATCC	23970	No detectado
104	Neisseria meningitidis	ATCC	700532D	No detectado
105	Neisseria mucosa	ATCC	19696	No detectado
106	Neisseria perflava	ATCC	14799D-5	No detectado
107	Neisseria sicca	ATCC	29256	No detectado
108	Neisseria subflava	ATCC	49275	No detectado
109	Prevotella bivia	KCTC	5454	No detectado
110	Prevotella buccalis	KCTC	5496	No detectado
111	Prevotella disiens	KCTC	5499	No detectado
112	Prevotella intermedia	KCTC	5692	No detectado
113	Prevotella melaninogenica	KCTC	5457	No detectado
114	Pseudomonas aeruginosa	KCCM	11328	No detectado
115	Saccharomyces cerevisiae	KCTC	7968	No detectado
116	Salmonella enteritidis	CCARM	8570	No detectado
117	Salmonella typhimurium	CCARM	0270	No detectado
118	Staphylococcus aureus	KCTC	1621	No detectado
119	Streptococcus agalactiae	ATCC	BAA-611D-5	No detectado
120	Streptococcus pneumoniae	ATCC	BAA-255D	No detectado
121	Treponema pallidum	ATCC	BAA-2642SD	No detectado
122	Trichomonas tenax	ATCC	30207	No detectado
123	Vibrio parahaemolyticus	KCTC	2471	No detectado

† 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. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- ※ ATCC: American Type Culture Collection
- NCTC: National Collection of Type Cultures
- KCTC: Korean Collection for Type Culture
- KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
- NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control
- Vircell : Vircell microbiologists
- CCARM: Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microbes
- KACC: Korean Agricultural Culture Collection
- KBPV: Korea Bank for Pathogenic Viruses
- KCLB: Korean Cell Line Bank

2. Sensibilidad

La sensibilidad se define como la concentración más baja de dado organismo que puede detectarse sistemáticamente ($\geq 95\%$ de resultados positivos entre todas las muestras analizadas). Fue confirmado por objetivo obteniendo los resultados correctos del organismo/ensayo en al menos 40 de las 40 muestras analizadas ($40/40 = 100\%$).

La sensibilidad del Allplex™ STI Essential Assay se determinó utilizando la cepa objetivo de cada unidad de muestra de valor cuantitativo aproximado de 10^3 a 10^9 . Los límites de detección para UU, NG, MH, MG, UP y TV fueron tal como se muestran en la siguiente tabla.

Núm	objetivo	LoD
1	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	100 CFU/ml
2	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 CFU/ml
3	<i>Mycoplasma hominis</i>	50 CFU/ml
4	<i>Mycoplasma genitalium</i>	50 CCU/ml
5	<i>Ureaplasma parvum</i>	50 CCU/ml
6	<i>Trichomonas vaginalis</i>	10 células/ml

En el caso de la *Chlamydia Trachomatis*, se utilizaron dos tipos de materiales (ATCC VR-1500 y ZMC 0801775) para la sensibilidad de Allplex™ STI Essential Assay;

- 1) Ácidos nucleicos extraídos y cuantificados como copias genómicas/rxn
- 2) Estado celular cuantificado como IFU/ml

La sensibilidad para *Chlamydia Trachomatis* se confirmó como la menor concentración para la cual se detectaron, al menos, $\geq 95\%$ de las réplicas, según;

	Copias genómicas/rxn		IFU/ml ¹⁾	
<i>Chlamydia</i>	ATCC VR-1500	10 copias/rxn	ATCC VR-1500	10 IFU/ml
<i>Trachomatis</i>	ZMC 0801775	10 copias/rxn	ZMC 0801775	40 IFU/ml

En el caso de utilizar el título funcional en IFU/ml, podría haber una discordancia entre los organismos estándar que se utilizarán.

¹⁾ Nota: La unidad IFU es un método de medición del título funcional en lugar del valor absoluto y se ve afectado por el protocolo de medida de la institución, la persona, el tiempo y el estado de la cepa en el momento de la medida. Por lo tanto, indica la diferencia en unidades IFU en función de las características de la cepa utilizada en el momento del experimento y no la diferencia en el rendimiento de sensibilidad del propio producto por cepa.

3. Reproducibilidad

Se preparó el panel de reproducibilidad de 21 analitos simulados que incluía muestras negativas altas (0,1X LoD), positivas bajas (1X LoD) y positivas moderadas (3X LoD). En cada sitio de prueba, el panel se probó durante cinco días, dos ejecuciones por día realizadas por dos operadores diferentes y usando en triplicado cada panel por ejecución de una extracción. Se realizó la prueba con un solo lote de Allplex™ STI Essential Assay en tres sitios diferentes y con tres lotes en un sitio interno. Se observaron tasas positivas para cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,00% para muestras positivas moderadas, $\geq 100,00\%$ para muestras positivas bajas y $\geq 7,33\%$ para muestras negativas altas.

La reproducibilidad del Allplex™ STI Essential Assay se evaluó entre sitios, lotes de productos y experimentadores.

Los resultados cumplieron los criterios que se mencionan arriba, lo que confirma el desempeño reproducible del Allplex™ STI Essential Assay.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se realizó con sustancias interferentes compuestas de 15 sustancias, para confirmar el rendimiento del ensayo Allplex™ STI Essential Assay en presencia de posibles sustancias interferentes. No hubo efectos en el resultado al agregar las sustancias: detección no específica o inhibición en la amplificación del objetivo. Basándose en los resultados, de 15 sustancias interferentes ninguna tuvo un efecto en los resultados del Allplex™ STI Essential Assay.

Núm	Sustancias interferentes	Concentración
1	Metronidazole	701 µmol/L
2	Amoxicillin	206 µmol/L
3	Bilirubin	342 µmol/L
4	Hemoglobin human	200 g/L
5	Progesterone	20 ng/mL
6	Progesterone	4,41 nmol/L
7	Acetylsalicylic Acid (aspirin)	3,62 mmol/L
8	Glucose	55 mmol/L
9	Albumin (BSA)	60 g/L
10	Mucin	3 mg/mL
11	Testosterone	41,6 nmol/L
12	Luteinizing hormone (LH)	70 IU/L
13	Follicle Stimulating Hormone (FSH)	100 IU/L
14	Cortisol	828 nmol/L
15	Fructose	1000 µmol/L

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

5. Estudio clínico

Un total de 226 muestras clínicas se analizaron con Allplex™ STI Essential Assay y con un ensayo de referencia.

La concordancia entre el ensayo Allplex™ STI Essential Assay (V2.0) y el ensayo de referencia, con el reflejo de la confirmación de la secuenciación, fue de 99,12%, 100%, 100%, 100%, 100%, 99,56% y 99,56% para la detección de CT, NG, MG, TV, MH, UU y UP, respectivamente.

La validez clínica del Allplex™ STI Essential Assay (V2.0) ha sido demostrada en el diagnóstico de siete analitos de STI, ya que los resultados satisfacen los criterios de aceptación.

Analito	PPA (comparado con ensayo de referencia)			NPA (comparado con ensayo de referencia)			Concordancia		
	TP/ (TP+FN)	% ^{a)}	95% CI ^{c)}	TN/ (TN+FP)	% ^{b)}	95% CI ^{c)}	(TP+TN) /Total	% ^{d)}	95% CI ^{c)}
<i>Ureaplasma urealiticum</i> (UU)	30/30	100,00	88,43 ~ 100,00	195/196	99,49	97,19 ~ 99,99	225/226	99,56	97,56 ~ 99,99
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (NG)	53/53	100,00	93,28 ~ 100,00	173/173	100,00	97,89 ~ 100,00	226/226	100,00	98,38 ~ 100,00
<i>Mycoplasma hominis</i> (MH)	45/45	100,00	92,13 ~ 100,00	181/181	100,00	97,98 ~ 100,00	226/226	100,00	98,38 ~ 100,00
<i>Mycoplasma genitalium</i> (MG)	35/35	100,00	90,00 ~ 100,00	191/191	100,00	98,09 ~ 100,00	226/226	100,00	98,38 ~ 100,00
<i>Ureaplasma parvum</i> (UP)	83/83	100,00	95,65 ~ 100,00	142/143	99,30	96,17 ~ 99,98	225/226	99,56	97,56 ~ 99,99
<i>Chlamydia trachomatis</i> (CT)	37/38	97,37	86,19 ~ 99,93	187/188	99,47	97,07 ~ 99,99	224/226	99,12	96,84 ~ 99,89
<i>Trichomonas vaginalis</i> (TV)	31/31	100,00	88,78 ~ 100,00	195/195	100,00	98,13 ~ 100,00	226/226	100,00	98,38 ~ 100,00

a) PPA (Concordancia de porcentaje positivo) (%): $100 \times TP/(TP+FN)$

b) NPA (Concordancia de porcentaje negativo) (%): $100 \times TN/(FP+TN)$

c) Se calcularon los intervalos de confianza bilaterales del 95%.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

REFERENCIAS

1. Agata Baczynska. [Development of real-time PCR for detection of *Mycoplasma hominis*.] *BMC Microbiology*. (2004). 4(35): 1471-2180
2. Aguilera-Arreola MG, González-Cardel AM, Tenorio AM, Curiel-Quesada E, Castro-Escarpulli G. [Highly specific and efficient primers for in-house multiplex PCR detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*.] *BMC Res Notes*. (2014). Jul 6;7:433
3. Fanrong Kong. [Postgenomic taxonomy of human ureaplasmas – a case study based on multiple gene sequences.] *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. (2004). 54: 1815–1821
4. Helle Friis Svenstrup. [Development of a Quantitative Real-Time PCR Assay for Detection of *Mycoplasma genitalium*.] *JCM*. (2005). 43(7): 3121–3128
5. Jackson CR, Fedorka-Cray PJ, and Barrett JB. [Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci.] *JCM*. (2004) 42(8): 3558–3565
6. Jonathon Keck, James P. Chambers, Thomas Forsthuber, Rishin Gupta, Bernard P. Arulanandam [A modified method for rapid quantification of *Chlamydia muridarum* using Fluorospot] *MethodsX* 6 (2019) 1925-1932
7. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] *Seegene Bulletin*. (2012) 1: 1-4.
8. 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
9. Kathleen A. and Stellrecht. [Comparison of Multiplex PCR Assay with Culture for Detection of Genital Mycoplasmas.] *JCM*. (2004). 42(4): 1528–1533
10. Kim SJ, Lee DS, Lee SJ. [The prevalence and clinical significance of urethritis and cervicitis in asymptomatic people by use of multiplex polymerase chain reaction.] *Korean J Urol*. (2011) 52(10):703-708
11. Lee DH. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] *Seegene Bulletin* (2012) 1: 5-10
12. Lee SJ, Park DC, Lee DS, Choe HS, Cho YH. [Evaluation of Seeplex® STD6 ACE Detection kit for the diagnosis of six bacterial sexually transmitted infection.] *J Infect Chemother*. (2012) 18(4):494-500
13. Madico G, Quinn TC, Rompalo A, McKee KT Jr, and Gaydos CA. [Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* Infection by PCR Using Vaginal Swab Samples.] *JCM*. (1998) 36(11): 3205-3210
14. 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.
15. Mata A. I, Gibello A, Casamayor A, Blanco M. M, Dominguez L, and Fernández-Garayzábal J. F. [Multiplex PCR Assay for Detection of Bacterial Pathogens Associated with Warm-Water Streptococcosis in Fish.] *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. (2004). 70(5): 3183–3187
16. Samra Z, Rosenberg S, Madar-Shapiro L. [Direct simultaneous detection of 6 sexually transmitted pathogens from clinical specimens by multiplex polymerase chain reaction and auto-capillary electrophoresis.] *Diagn*

Microbiol Infect Dis.(2011) 70(1):17-21

















17. Wood H., Reischl U., Peeling R.W. [Rapid Detection and Quantification of Chlamydia trachomatis in Clinical Specimens by LightCycler PCR] Rapid Cycle Real-Time PCR — Methods and Applications. Springer, Berlin, Heidelberg (2002) 115-132

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

Dra. 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 <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Número de catálogo
	Utilizar por fecha
	Límite superior de temperatura
	Mezcla de oligonucleótidos 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
	Contém o suficiente para <n> testes

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN DE PEDIDO

Núm. cat.	Producto	Tamaño
Allplex™ series		
SD10245Z	Allplex™ STI Essential Assay	25 rxns*
SD9801Y	Allplex™ STI Essential Assay	50 rxns
SD9801X	Allplex™ STI Essential Assay	100 rxns*
SD10177Z	Allplex™ Genital ulcer Assay	25 rxns*
SD9802Y	Allplex™ Genital ulcer Assay	50 rxns
SD9802X	Allplex™ Genital ulcer 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 hasta 40 de 50.

(50 rxns → 40 rxns)

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

Dr. MARIANA 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
EX00013C	STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C 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
EX00017P	STARMag 96 ProPrep C (Plate Type)	96T / 1box
EX00017T	STARMag 96 ProPrep C (Tube Type)	96T / 1box

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

STI Essential Assay

(Núm. Cat. SD9801X, SD10245Z)

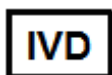
Un ensayo de PCR multiplex en tiempo real para la detección de *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Mycoplasma genitalium* (MG), *Mycoplasma hominis* (MH), *Ureaplasma urealyticum* (UU), *Ureaplasma parvum* (UP) y *Trichomonas vaginalis* (TV) en muestras de orina, hisopo genital, citología en medio líquido y semen.

Para usar con el

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

Para usar con el

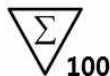
1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)



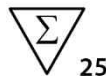
Solo para diagnóstico in vitro



SD9801X



SD10245Z



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

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	19
RESULTADOS	39
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	42
RENDIMIENTO	44
REFERENCIAS	52
SÍMBOLOS	54
INFORMACIÓN DE PEDIDO	55

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

Dr. 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 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, citología en medio líquido y semen.** Este test no ha sido aprobado para ningún otro tipo de muestra.
- **Almacene las muestras 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.
- 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. 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 que productos amplificados contaminen áreas de trabajo tras la amplificación, abra los tubos o tiras de reacción de PCR solamente en áreas de trabajo designadas.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17505

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- 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 con un almacenaje a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ es de 12 meses a partir de la fecha de fabricación. Consulte la etiqueta para conocer la fecha final 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;
C. trachomatis (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP), y *T. vaginalis* (TV)

USO PREVISTO

Allplex™ STI Essential Assay es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección simple o múltiple de *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP) y *T. vaginalis* (TV) en muestra de orina, hisopo genital, citología en medio líquido y semen.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

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

Allplex™ STI Essential Assay es un ensayo de PCR en tiempo real que permite la amplificación y detección simultánea de los ácidos nucleicos objetivos de *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP), *T. vaginalis* (TV) y Control Interno (IC).

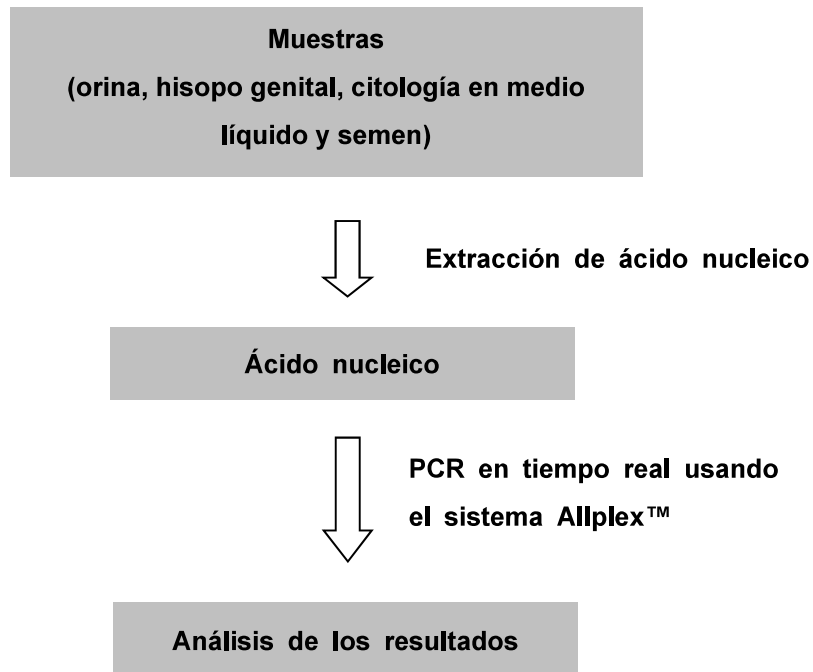
En Allplex™ STI Essential Assay, se utiliza un gen humano endógeno como Control Interno (IC) para supervisar todo el proceso desde la recogida de muestras hasta la extracción de ácido nucleico, así como para constatar cualquier posible inhibición de la PCR. La eficiencia de la PCR se puede reducir mediante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

Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, en el Allplex™ STI Essential 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

Se usa la expresión «enfermedades de transmisión sexual» (STDs) para hacer referencia a una variedad de síndromes clínicos provocados por patógenos que pueden adquirirse y transmitirse a través de la actividad sexual.

Más de 30 patógenos bacterianos, virales y parásitos se transmiten sexualmente y constituyen un grupo de infecciones llamadas infecciones de transmisión sexual (STIs).

Algunas STI pueden aumentar el riesgo de la adquisición de HIV tres veces o más. Las STI pueden tener graves consecuencias más allá del impacto inmediato de la propia infección, a través de la transmisión madre-hijo de las infecciones y enfermedades crónicas.

Más de un millón de personas adquieren una STI todos los días. Cada año, aproximadamente 500 millones de personas se enferman con una de estas cuatro STI: clamidia, gonorrea, sífilis y tricomoniasis.

1. *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis, el agente etiológico de clamidia, provoca una morbilidad sustancial y costes económicos en todo el mundo.

Las infecciones de clamidia entre las mujeres normalmente son asintomáticas. Sin embargo, pueden ocasionar enfermedad inflamatoria pélvica (PID), una de las principales causas de infertilidad, embarazo ectópico y dolor pélvico crónico. Al igual que ocurre con otras STD inflamatorias, la infección de clamidia puede facilitar la transmisión de la infección del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) Además, las mujeres embarazadas infectadas con clamidia pueden pasar la infección a sus hijos durante el parto, provocando potencialmente oftalmía neonatal y neumonía.

2. *Neisseria gonorrhoeae*

La gonorrea es una enfermedad infecciosa muy común. La mayoría de las mujeres con gonorrea son asintomáticas. Si la infección no se detecta, no se trata o se trata de manera inadecuada, puede ascender al tracto genital superior y provocar infección gonocócica complicada (por ejemplo, PID y secuelas relacionadas como embarazo ectópico e infertilidad) entre las mujeres, y edema del pene y epididimitis entre los hombres.

3. *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis es el agente etiológico de la STI no viral más frecuente en todo el mundo. *T. vaginalis* puede provocar un flujo vaginal anormal (tricomoniasis) entre las mujeres y puede ser el responsable de hasta el 10~12% de los casos de uretritis no gonocócica entre los hombres; la infección puede ser asintomática en por lo menos el 50% de las mujeres y el 70~80% de los hombres.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Genital mycoplasmas

M. genitalium y *M. hominis* y las dos especies de ureaplasma *U. urealyticum* (anteriormente conocida como *U. urealyticum*, biovar 2) y *U. parvum* (anteriormente conocida como *U. urealyticum*, biovar 1) son comunes en el tracto urogenital humano.

M. genitalium se identificó por primera vez a principios de 1980 y se ha reconocido como una causa de la uretritis masculina, responsable de aproximadamente el 15~20% de los casos de uretritis no gonocócica (NGU), del 20~25% de uretritis no gonocócica ni clamidial y del 30% de la uretritis periódica o persistente. *M. genitalium* se encuentra en el cuello del útero y el endometrio de las mujeres con PID con más frecuencia que en las que no la tienen.

Las ureaplasmas pueden encontrarse en el cuello del útero o en la vagina del 40~80% de las mujeres asintomáticas sexualmente activas, y *M. hominis* en el 20~50%. Por lo tanto, las ureaplasmas y *M. hominis* deben considerarse en principio como comensales cuando se detecten en el tracto genital bajo. Aunque hay un debate constante, se van acumulando pruebas de que estos microbios causan enfermedades del tracto genital bajo, entre las que se incluyen cervicitis, entre las mujeres. Es importante realizar un diagnóstico preciso de *Ureaplasma* spp. y *Mycoplasma hominis* en las muestras cervicales porque estos microorganismos pueden ser patógenos y pueden asociarse a resultados adversos del embarazo, sepsis postparto, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica neonatal y displasia broncopulmonar.

El patrón actual de atención sanitaria en las pruebas para detectar infecciones de transmisión sexual (STI) implica el uso de pruebas separadas para detectar la presencia de cada posible patógeno. La mayoría de las pruebas comercialmente disponibles se centran solo en detectar las causas bacterianas más frecuentes de las STI: CT y NG. Sin embargo, dado que la mayoría de las STI no muestran síntomas evidentes, es fundamental examinar una mayor variedad de patógenos. Para complicar aún más el diagnóstico de STI, los diferentes patógenos pueden causar síntomas similares, pero el régimen de tratamiento antibiótico puede diferir dependiendo del patógeno. La complejidad de las cuestiones planteadas hace que la detección simultánea y precisa de STI sea un elemento fundamental para el tratamiento rentable del paciente.


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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

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

Información de pedido (**REF** SD9801X)


Allplex™ STI Essential Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	4X STI-EA 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 +	STI-EA PC	50 µL	Control Positivo (PC) - Mezcla de patógenos y clones
CONTROL IC	ASTI IC	1.000 µL	Control interno (IC) de 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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

Información de pedido (**REF** SD10245Z)

Allplex™ STI Essential Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	4X STI-EA 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 +	STI-EA PC	50 µL	Control Positivo (PC) - Mezcla de patógenos y clones
CONTROL IC	ASTI IC	250 µL	Control interno (IC) de 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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ STI Essential 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 puede usarse por 30 días después de su apertura inicial y resiste hasta 5 ciclos de congelación y descongelación sin que el rendimiento se vea afectado. 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
 - Centrífuga de sobremesa
 - Centrífuga de microplaca
 - Mezclador vórtex
 - CFX96™ Real-time PCR 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)*
 - Sellador de placa del PCR PX1 (auto-sealer, Núm. cat. 181-4000, Bio-Rad)*
 - Solución salina
- * Asegúrese de usar la máquina de sellado térmico y el sellador para placas indicados anteriormente juntos.

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

Dr. 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.

Muestras de orina**Muestras de hisopos genitales****Muestras de citología en medio líquido****Semen**

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**Muestras de orina**

- Se debe de 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 (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. 17589

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Muestras de citología en medio líquido

- Use el medio citológico en base líquida 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™.

Semen

- Recoja entre orina en un recipiente limpio de polipropileno. Cierre y etiquete el recipiente de la muestra. Siga estrictamente las instrucciones dadas para el almacenamiento y el transporte.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

Muestras	Almacenamiento y transporte		Nota
	Temp.	Duración*	
Muestra de orina	2~8°C	1 semana	- El desempeño 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.
Muestras de hisopo genital	2~8°C	1 semana	
Medio ThinPrep®	2~8°C**	90 días	
	Temperatura ambiente**		
Medio SurePath™	2~8°C	2 semanas	
Semen	2~8°C	1 semana	

* Duración: El período de tiempo desde la recogida de la muestra hasta la prueba, incluido el almacenamiento y el transporte de la muestra antes de la prueba.

** La temperatura óptima de transporte es 2-25°C.

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.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Muestras de orina y ThinPrep®

Opcional: Se puede omitir el pretratamiento.

Nota: Realizar el proceso de pretratamiento puede mejorar la sensibilidad respecto a la de los casos sin proceso previo al tratamiento.

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19~25°C).
- Centrifugue 1 mL de orina y ThinPrep® durante 15 minutos a 15.000 x g (13.000 rpm).
- Tras desechar el sobrenadante, el sedimento debe resuspenderse en solución salina al volumen recomendado (véase volumen recomendado de 2.C-1, 2.C-2) mediante vórtice exhaustivo.
- Siga el protocolo del fabricante.

Muestras SurePath™

- 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).
- Tras desechar el sobrenadante, el sedimento debe resuspenderse en solución salina al volumen recomendado (véase volumen recomendado de 2.C) mediante vórtice exhaustivo.

Nota: Para la aplicación de la muestra SurePath™ en Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet, el sedimento debe resuspenderse en solución tamponadora de lisis en el STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit.

Nota: Surepath™ no ha sido validado con el STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

- Siga el protocolo del fabricante.

Semen

- Establezca el semen durante 30 minutos en la oscuridad hasta que se licue a temperatura ambiente (19-25°C).
- Diluya tres veces con solución salina en el volumen recomendado (Consulte Volumen Recomendado de 2.C) agitándolo en el vórtice a fondo.
- 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.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
CIN 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- 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: 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.

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

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

** Surepath™ no ha sido validado con el STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

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

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

** Surepath™ no ha sido validado con el STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

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

* Surepath™ no ha sido validado con el STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

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

* Surepath™ no ha sido validado con el STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit.

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

Dra. MARINA 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 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 del A al D se procesan automáticamente en el Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet. Consulte cada manual de operación.

A. Prepare la PCR Mastermix.

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

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

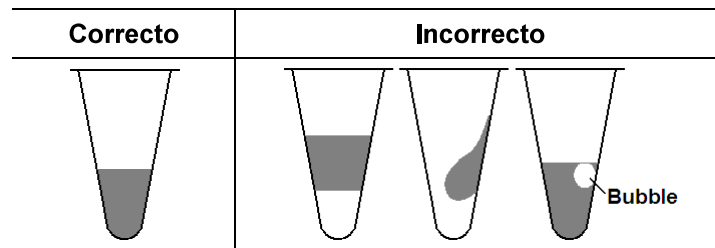
E. Cierre la tapa y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

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.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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 STI-EA PC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

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

Nota: No etiquete la tapa de los tubos de reacción, ya que la fluorescencia se detecta desde la parte superior de la tapa.

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. MARIANA 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)**.

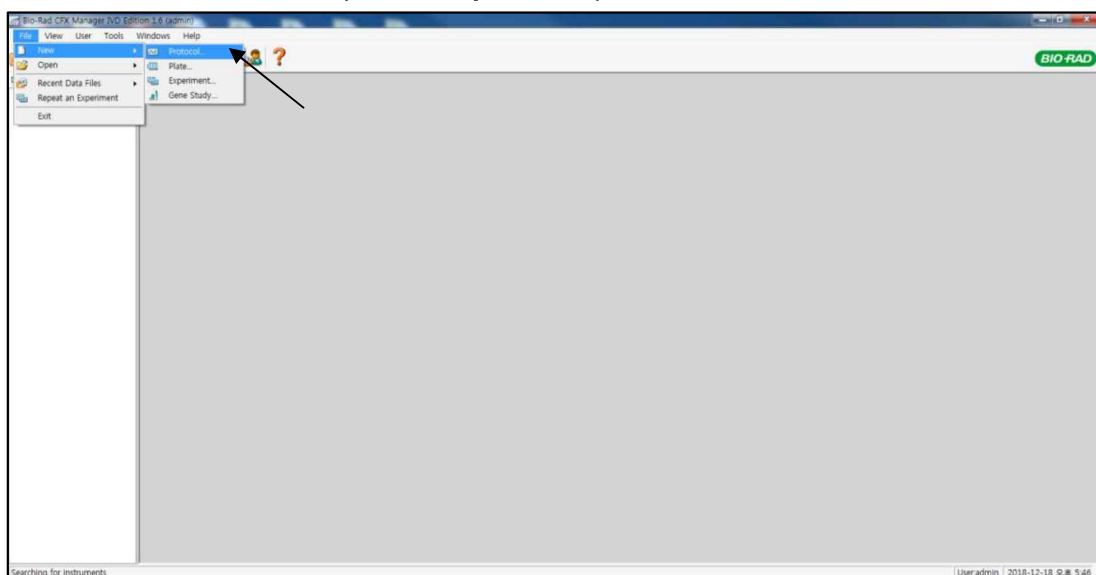


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

Paso	No. de ciclos	Temp.	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 (VAYA AL) Paso 3, 4 veces más.		
7	40	95°C	10 seg
8*		60°C	1 min
9*		72°C	10 seg
10	GOTO (VAYA AL) Paso 7, 39 veces más.		

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

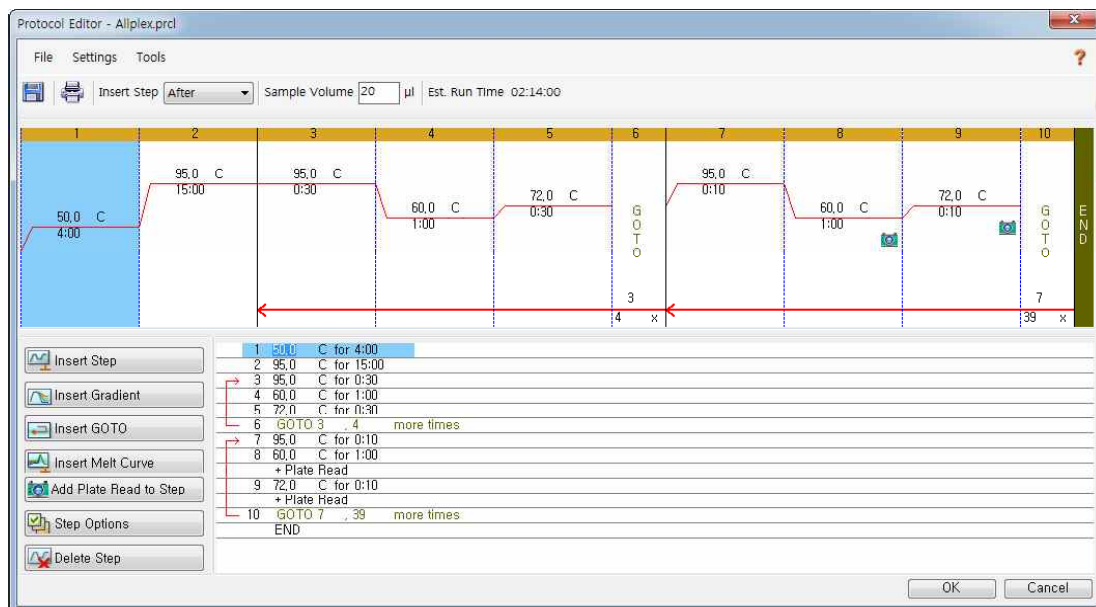


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

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)**.

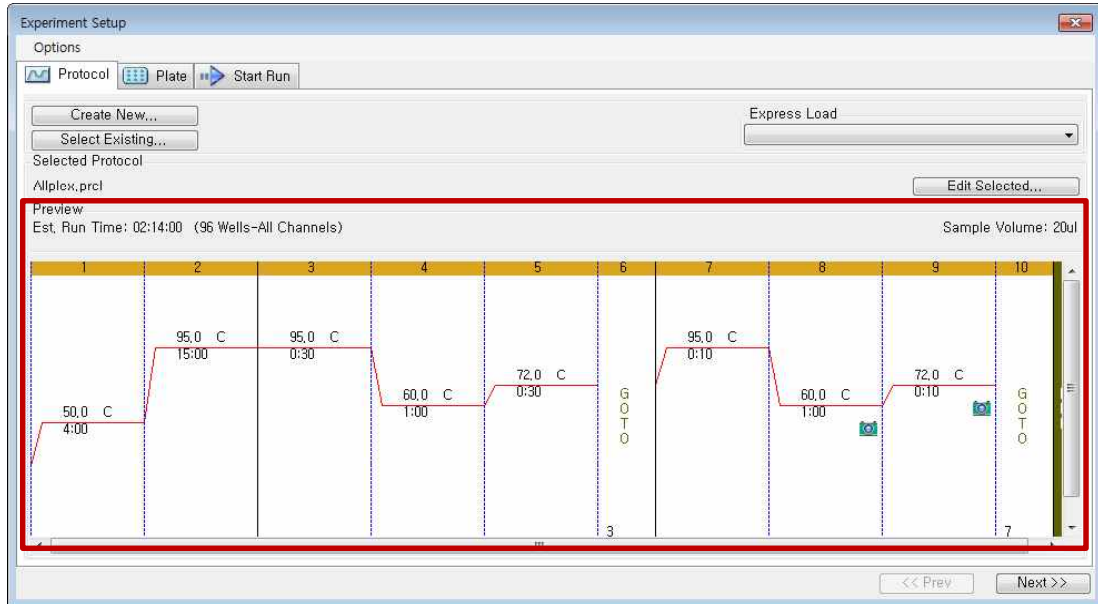


Fig. 3. **Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)**

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)**.

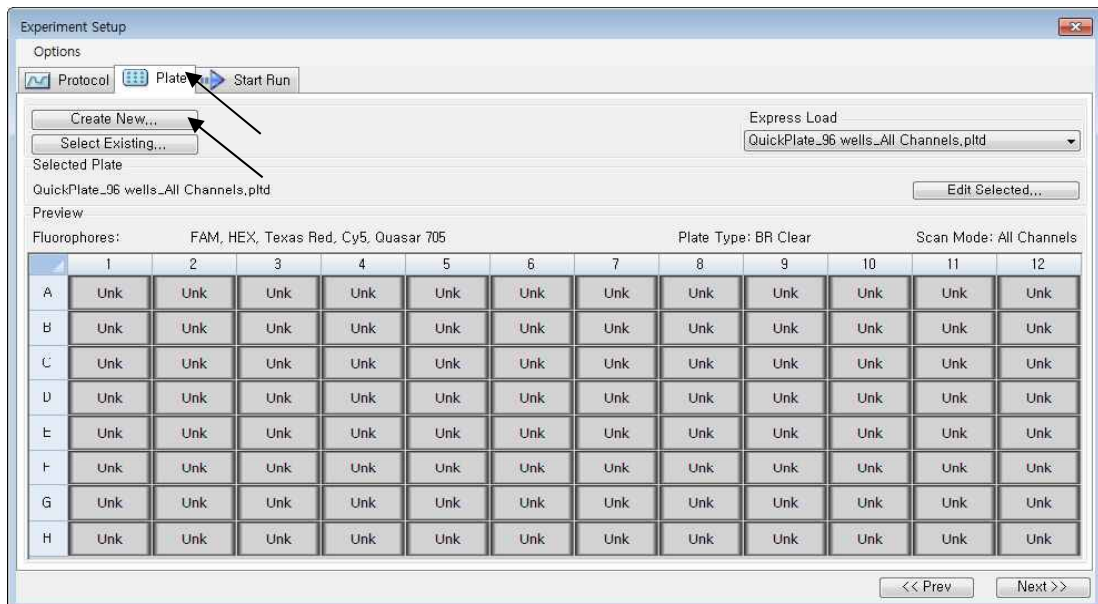


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placa)**

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)**.

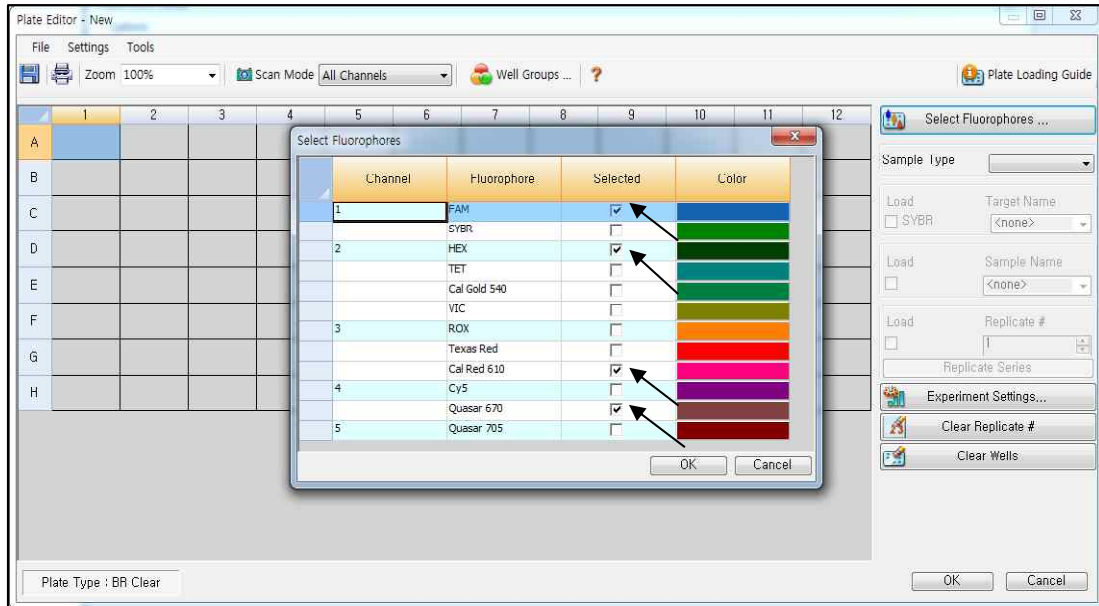


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**)

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 (Tamaño de la placa) (96 wells (96 pocillos))** y **Plate Type (Tipo de placa) (BR White (Blanco BR))**.

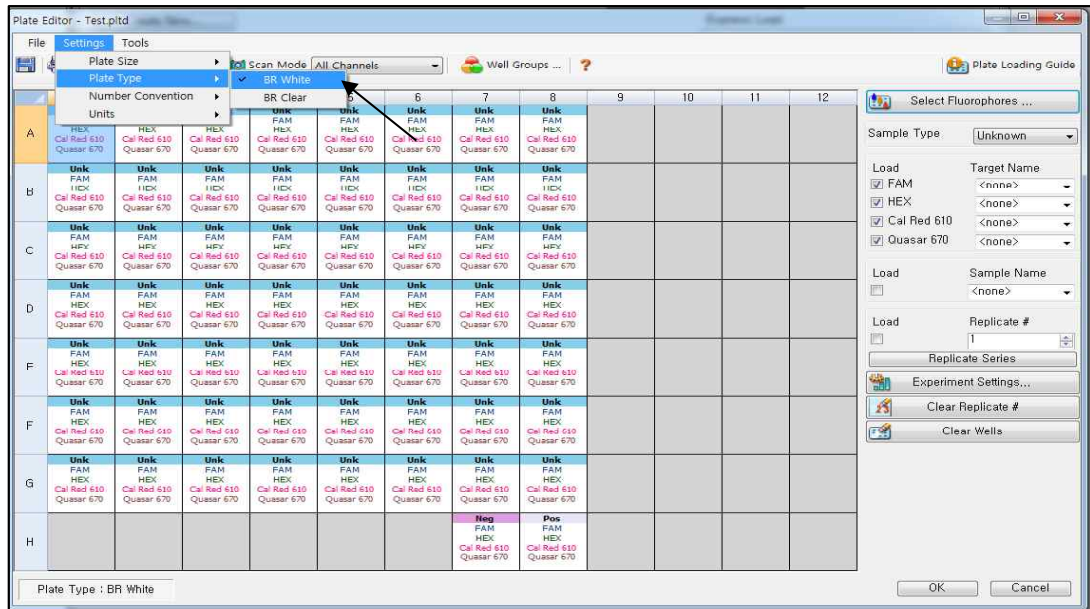


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

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

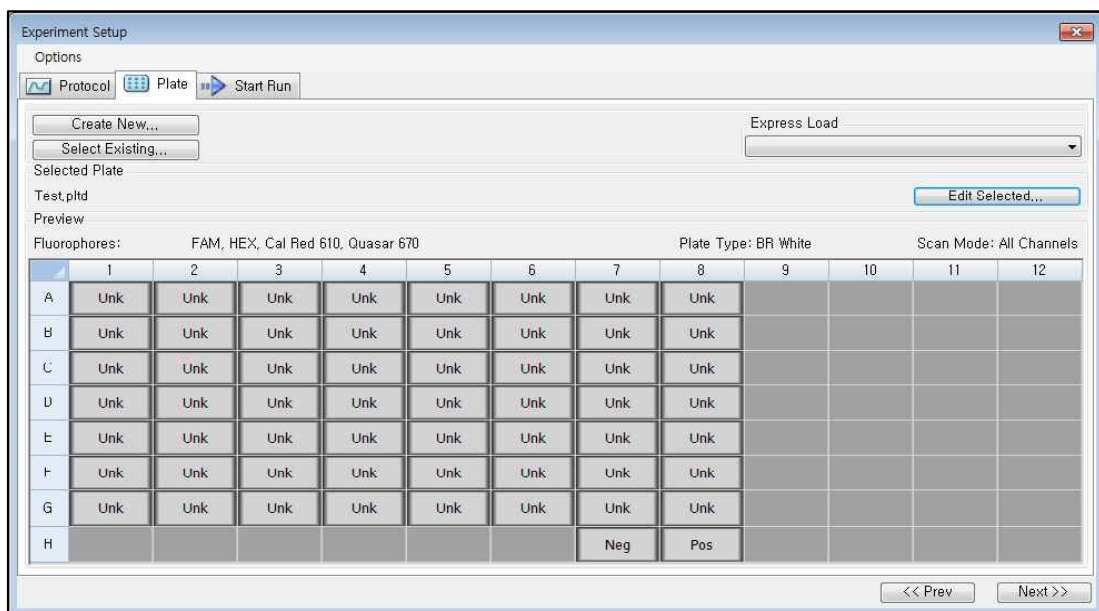


Fig. 7. Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para ir a Start Run (Iniciar Ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

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

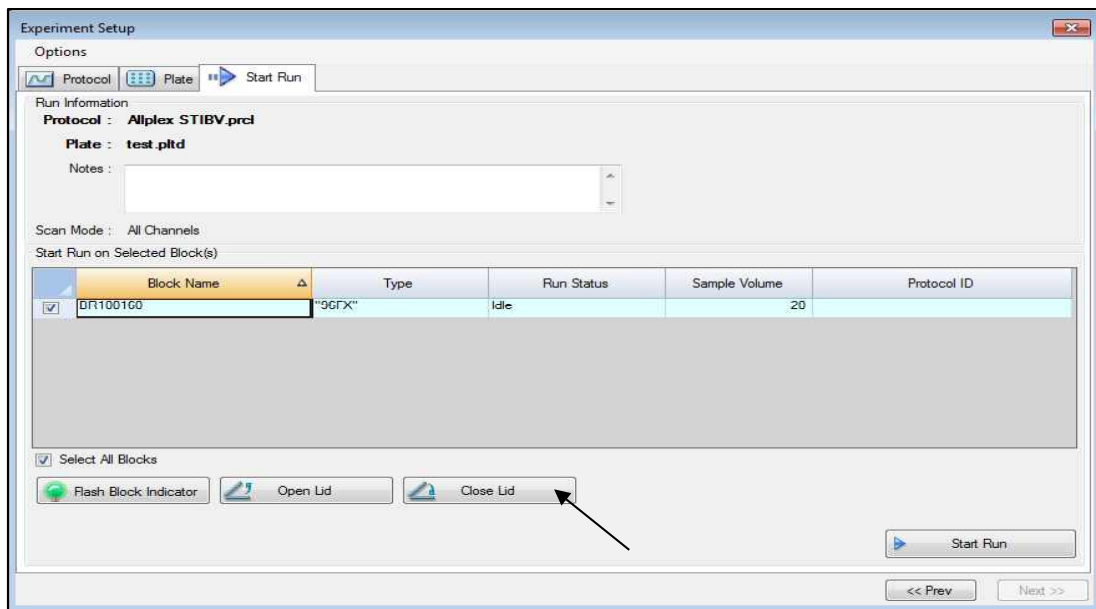


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio de ejecución)**.

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 (Exportación 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. MARILINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

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

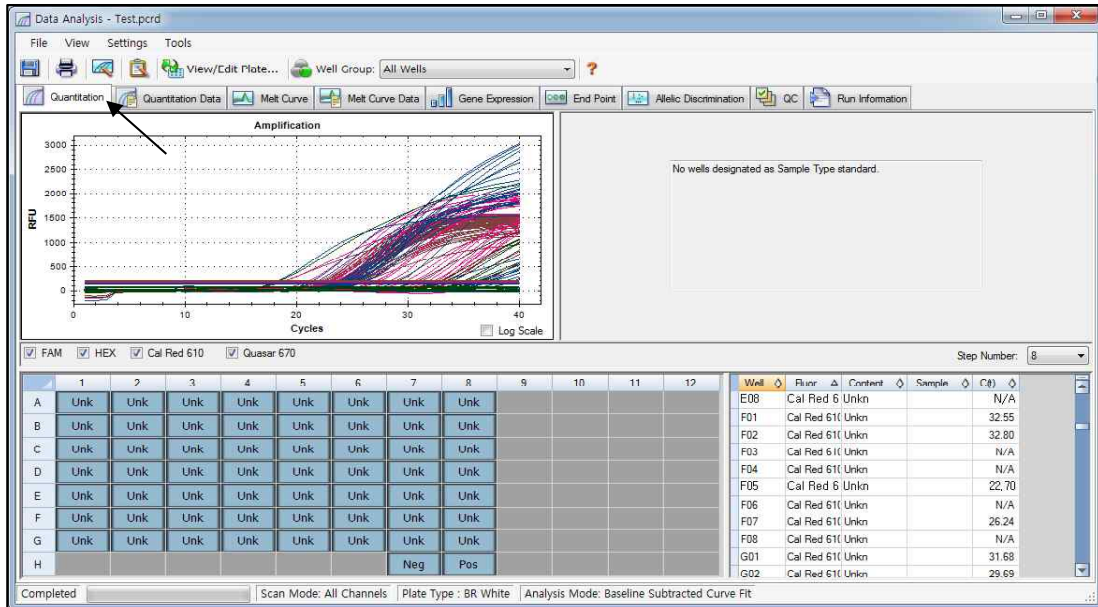


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

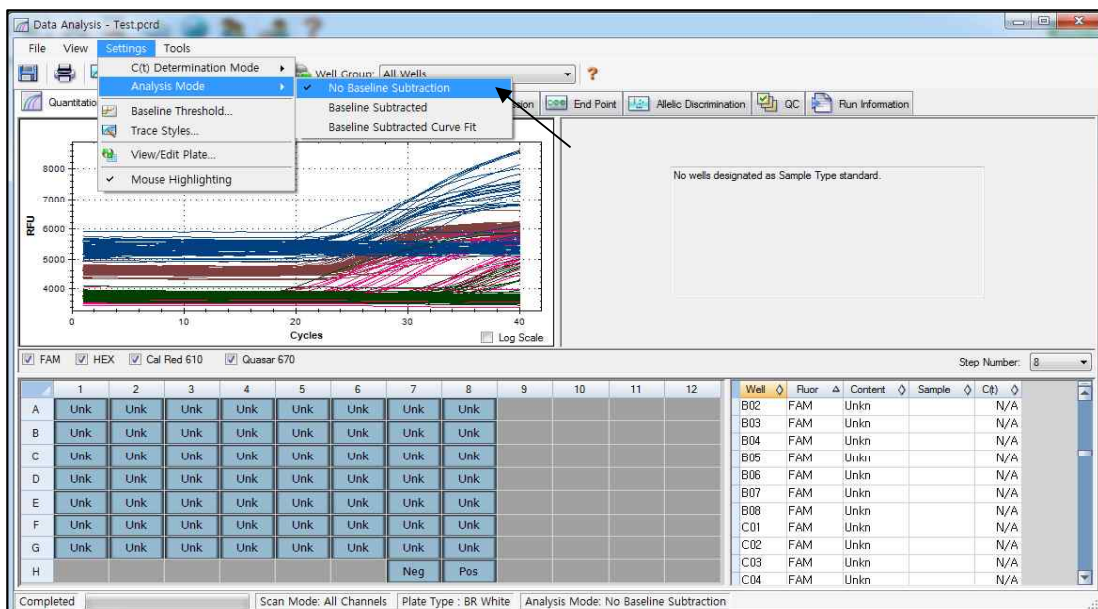


Fig. 10. No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)

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

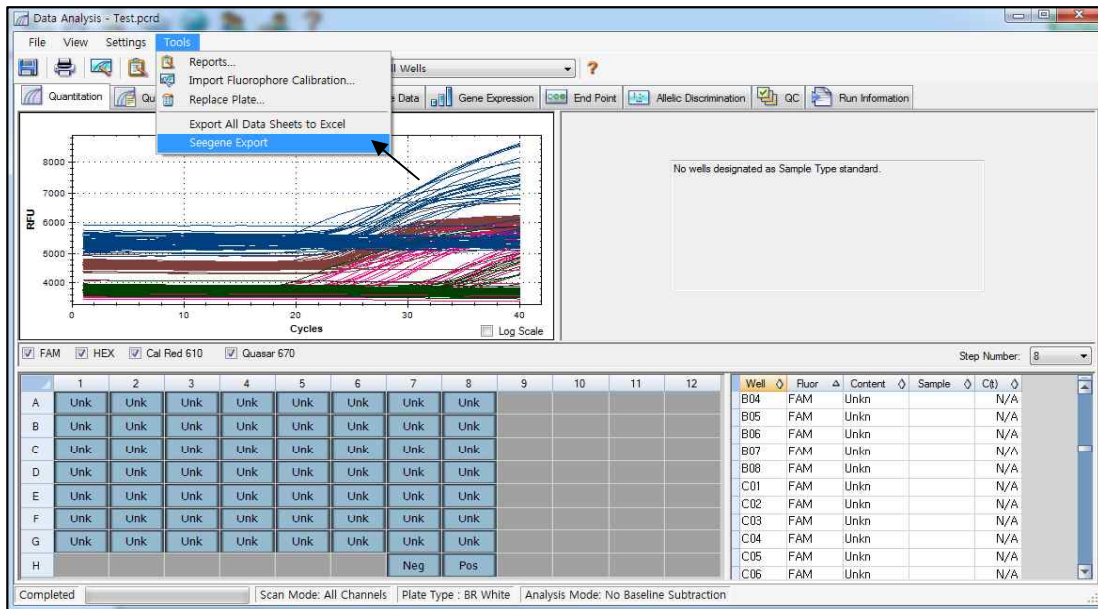


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación Seegene)**

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

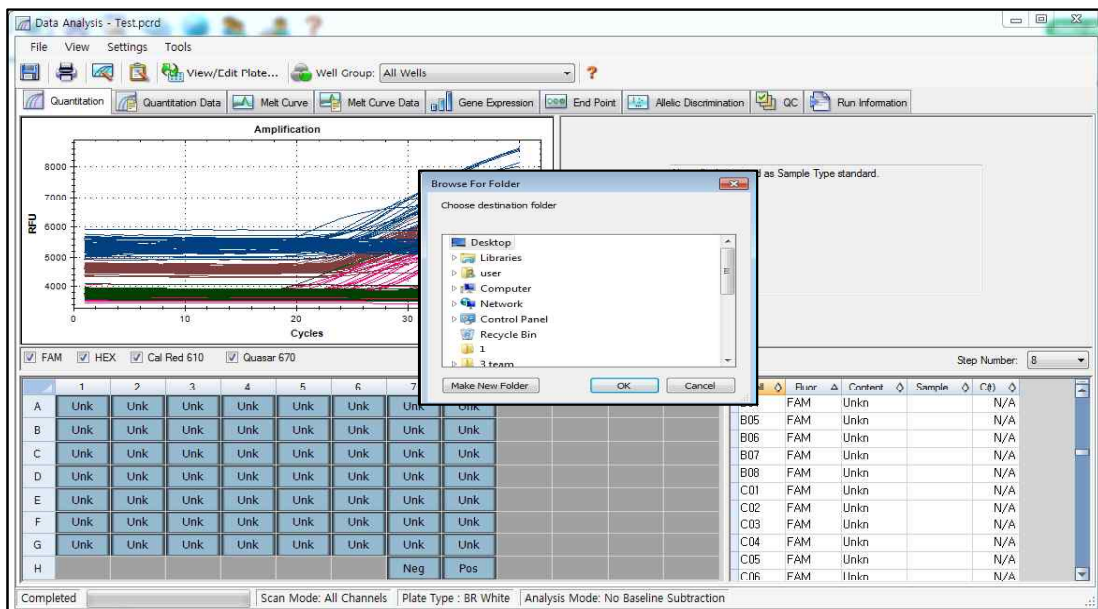


Fig. 12. **Seegene Export (Exportación Seegene) a la carpeta indicada**

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Configurar el análisis de datos en Seegene Viewer

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

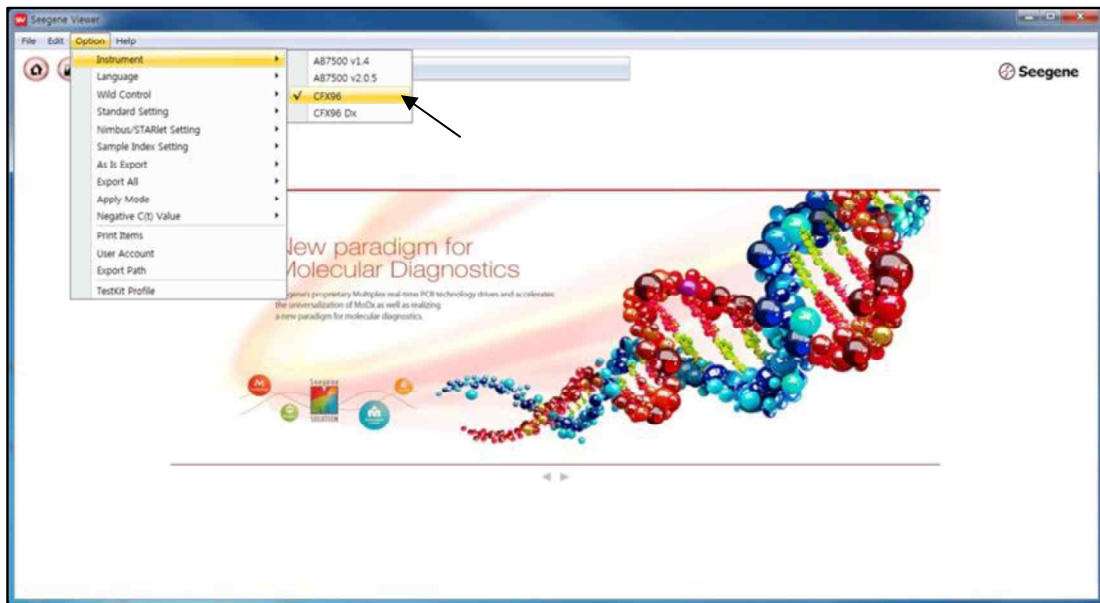


Fig. 13. Seegene Viewer

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)**.

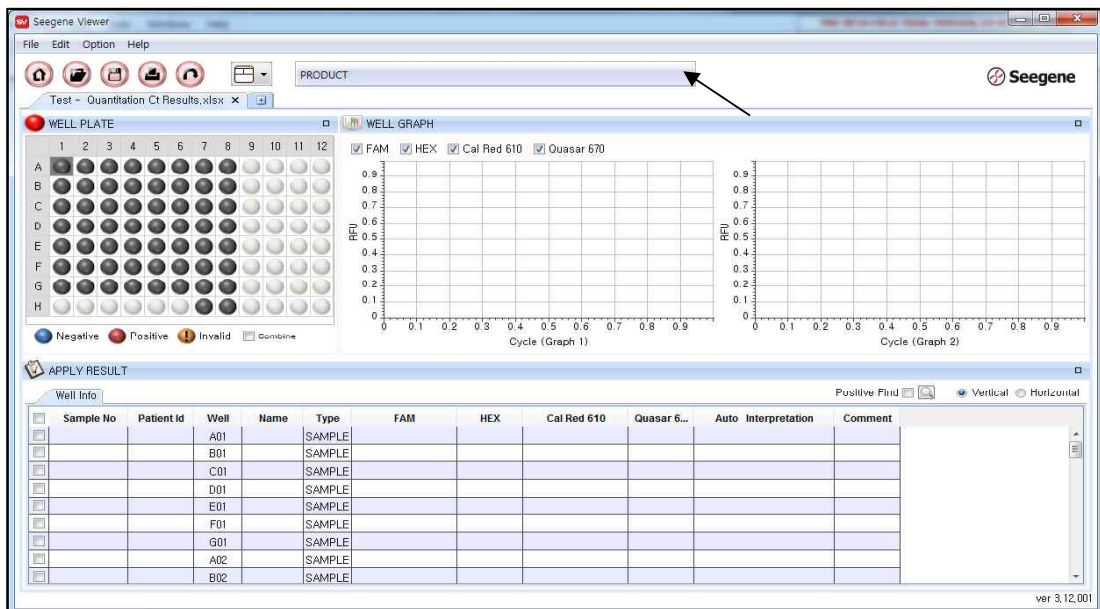


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

Nota: verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit de prueba (8 strip / 96 cap / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.



Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

4) Criterios de validación de los resultados del control

a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez de los experimentos, las pruebas de PCR deben ir acompañadas de PC (Control Positivo) y NC (Control Negativo). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

Control	Resultado de Seegene Viewer								Interpretación automática
	FAM (C _i)		HEX (C _i)		Cal Red 610 (C _i)		Quasar670 (C _i)		
	UU	NG	MH	MG	UP	CT	TV	IC	
Control Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Control Positivo(+)
Control Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo(-)

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos de falla en la validación, los resultados no se deben interpretar ni notificar. Y se debe repetir la reacción del PCR

Firm. 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 CFX96™ Dx System (Bio-Rad) se puede dividir en tres pasos: Protocol Setup (Configuración de protocolo), Plate Setup (Configuración de placa) y Start Run (Ejecución inicial).

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)**.

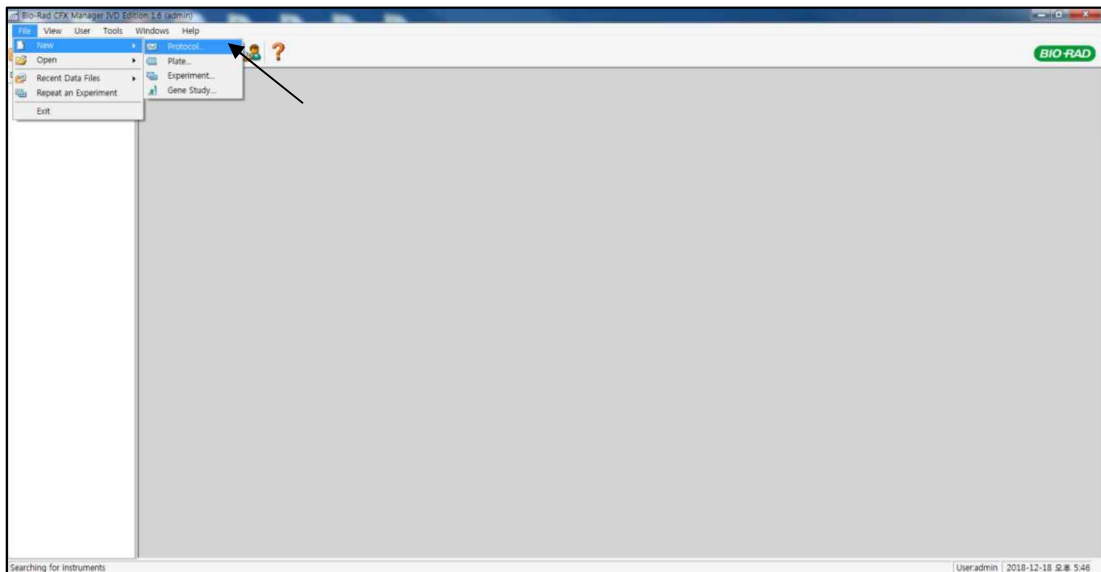


Fig. 1. **Protocol Setup (Configuración del protocolo)**. Cree un nuevo protocolo o cargue un protocolo existente para iniciar el ciclo

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:

Paso	No. de ciclos	Temp.	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 (VAYA AL) Paso 3, 4 veces más.		
7	40	95°C	10 seg
8*		60°C	1 min
9*		72°C	10 seg
10	GOTO (VAYA AL) Paso 7, 39 veces más.		

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

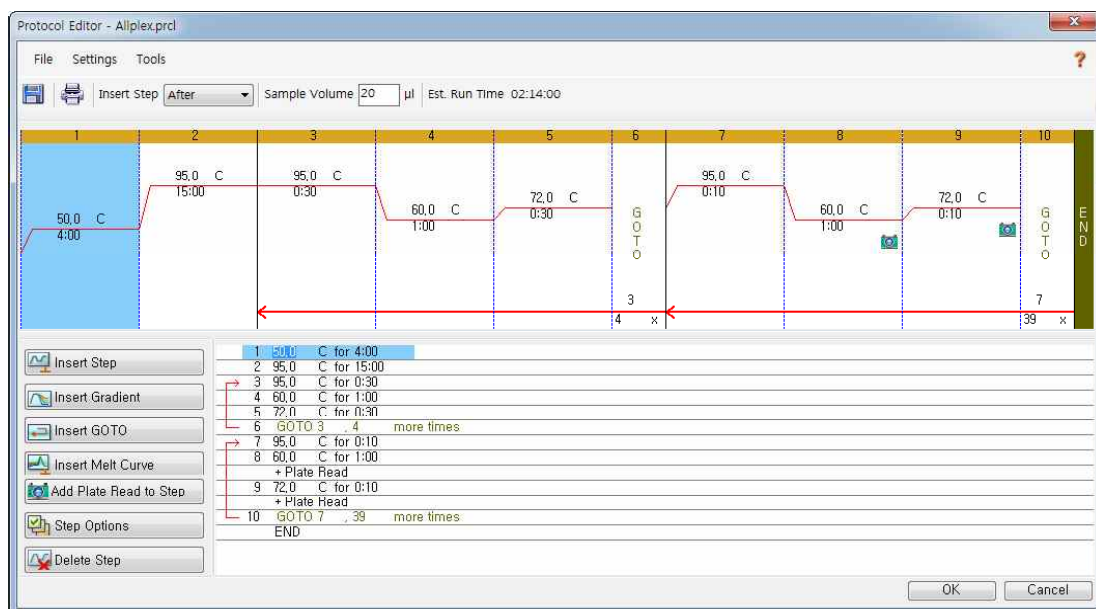


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

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
APDDEERADA
BioSystems S.A.

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

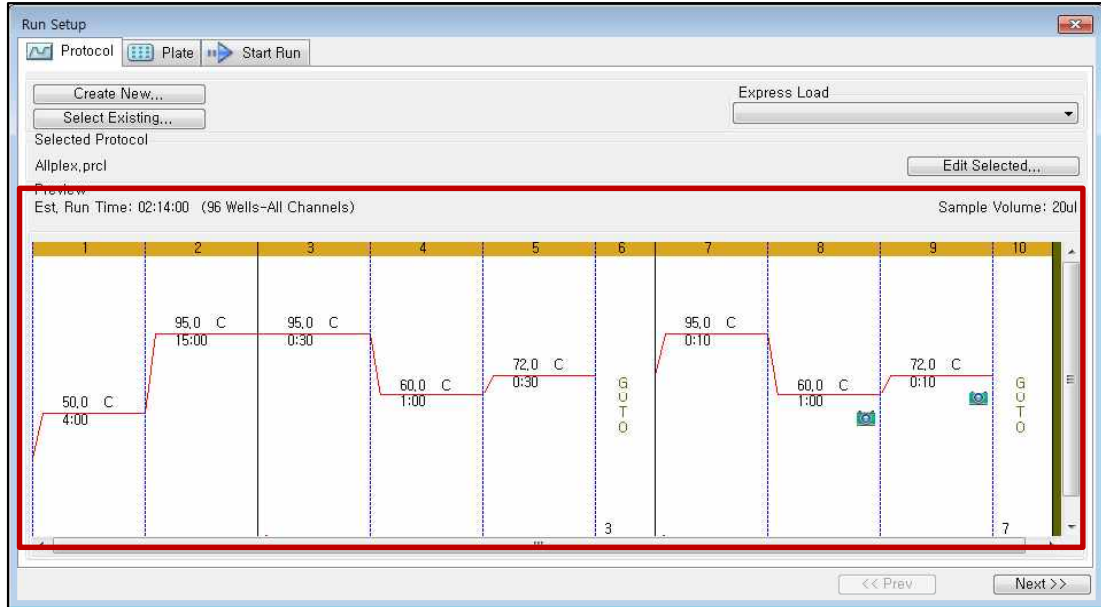


Fig. 3. Run Setup (Configuración de Ejecución): Protocol (Protocolo)

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) Desde la pestaña **Plate (Placa)** del menú **Run Setup (Configuración de Ejecución)**, haga clic en **Create New (Crear Nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de Placas)**.

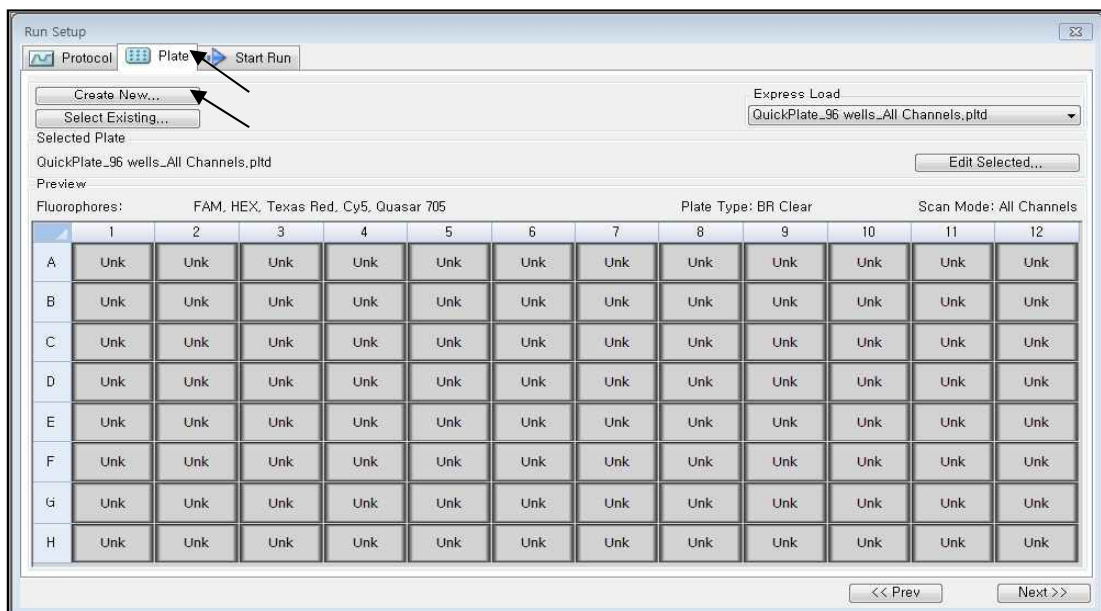


Fig. 4. Plate Editor (Editor de placa). Crear una nueva placa

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)**.

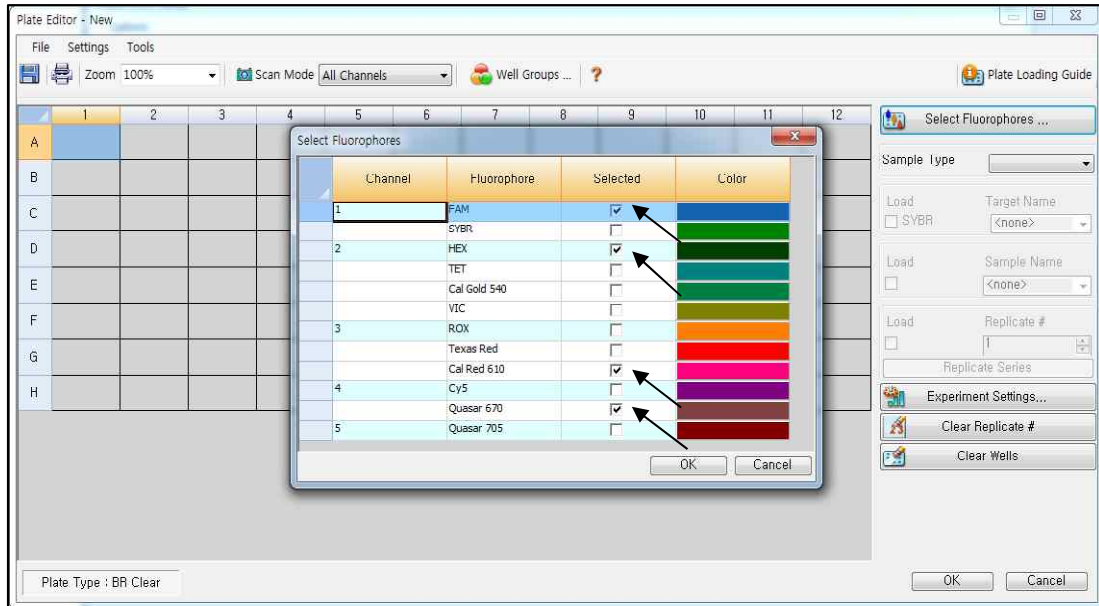


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**)

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 (Tamaño de la placa) (96 wells (96 pocillos))** y **Plate Type (Tipo de placa) (BR White (Blanco BR))**.

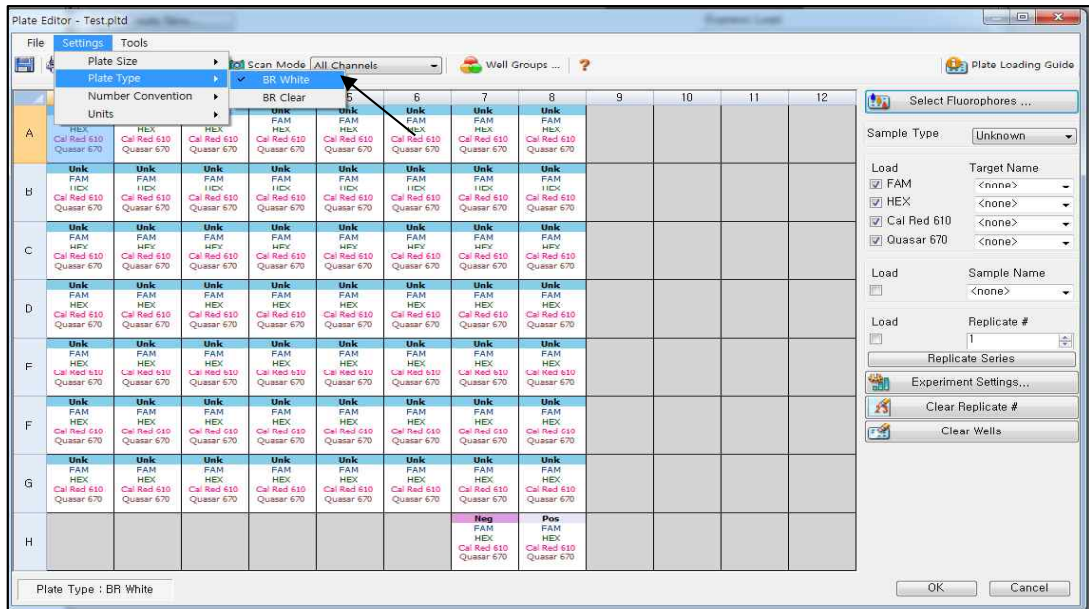


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

- 7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.
- 8) Vuelva a la ventana **Run Setup (Configuración de Ejecución)**.

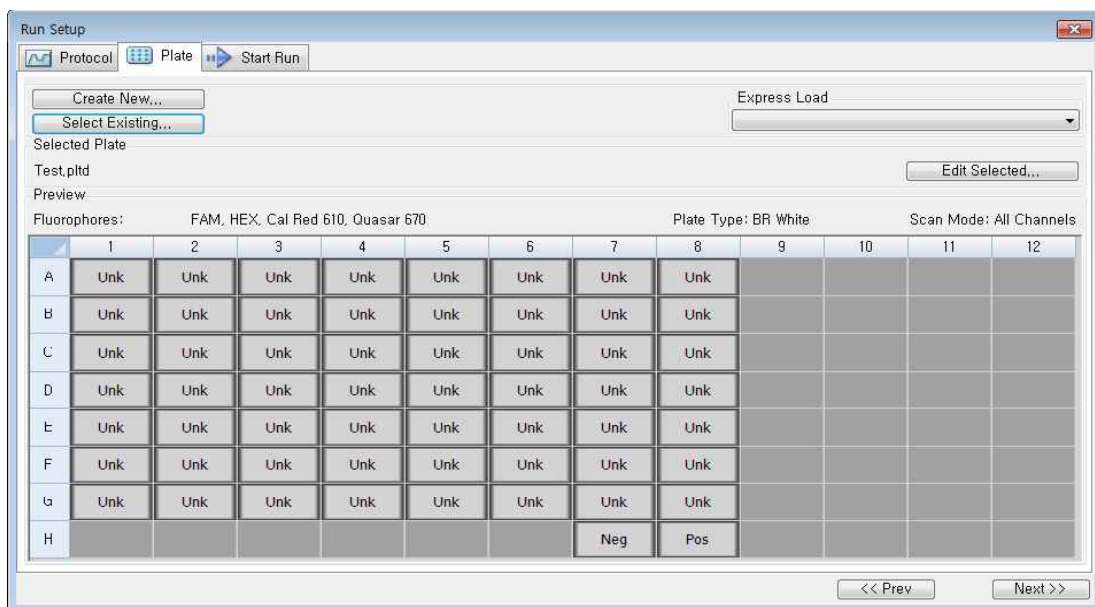


Fig. 7. Run Setup (Configuración de Ejecución): Plate (Placa)

- 9) Haga clic en **Next (Siguiente)** para ir a Start Run (Iniciar Ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) Desde la pestaña **Start Run (Iniciar Ciclo)** en **Run Setup (Configuración de Ciclo)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar Tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

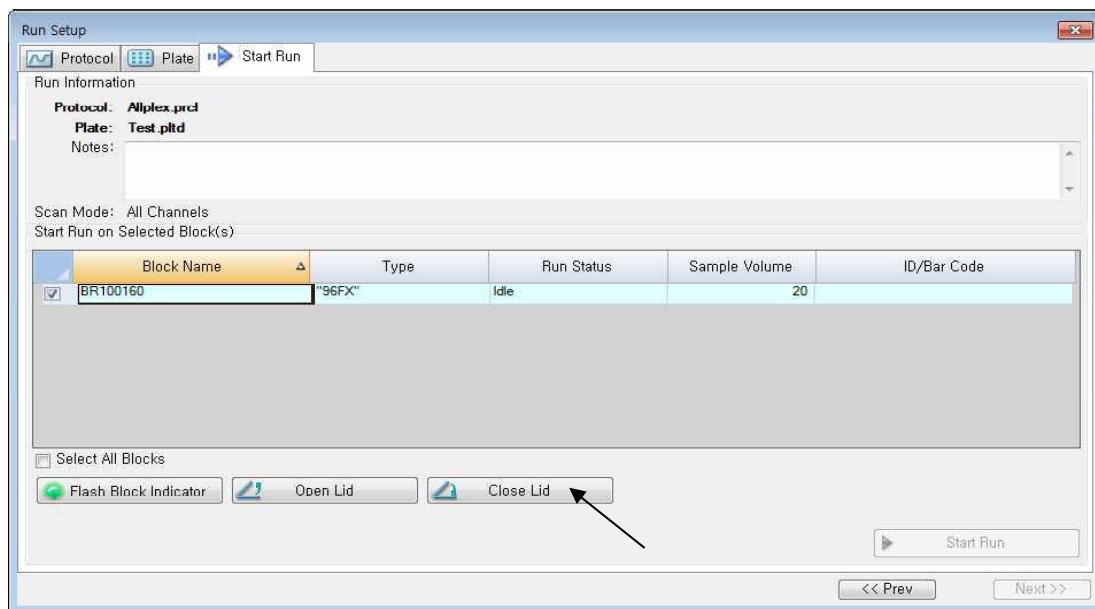


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

- 2) Haga clic en **Start Run (Inicio de ejecución)**.
- 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 (Exportación 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. Configuraciones predeterminadas para análisis de datos en el CFX Manager™

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

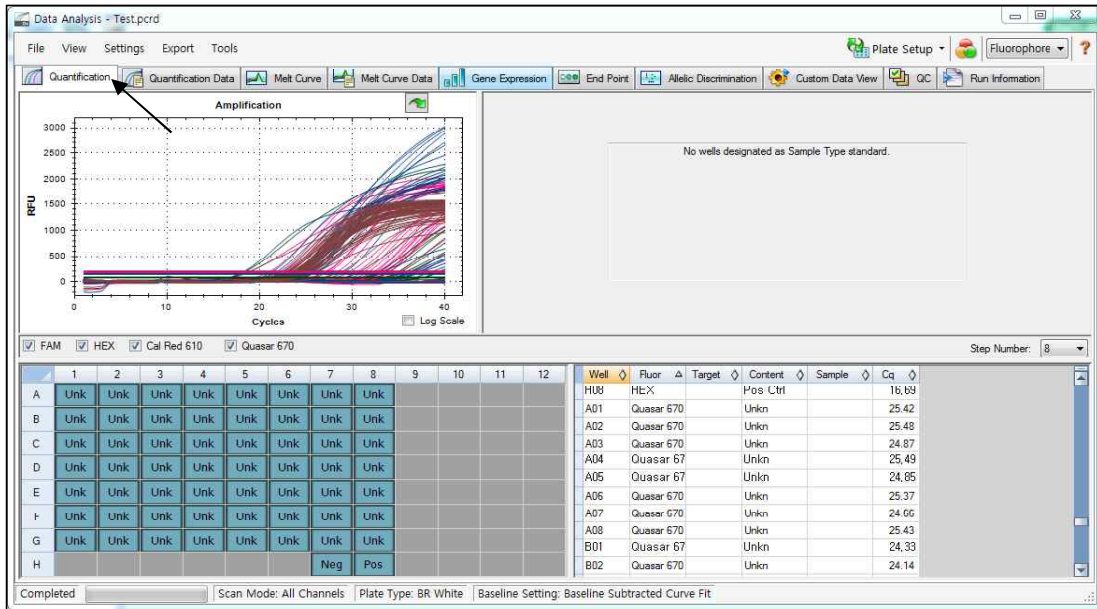


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

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

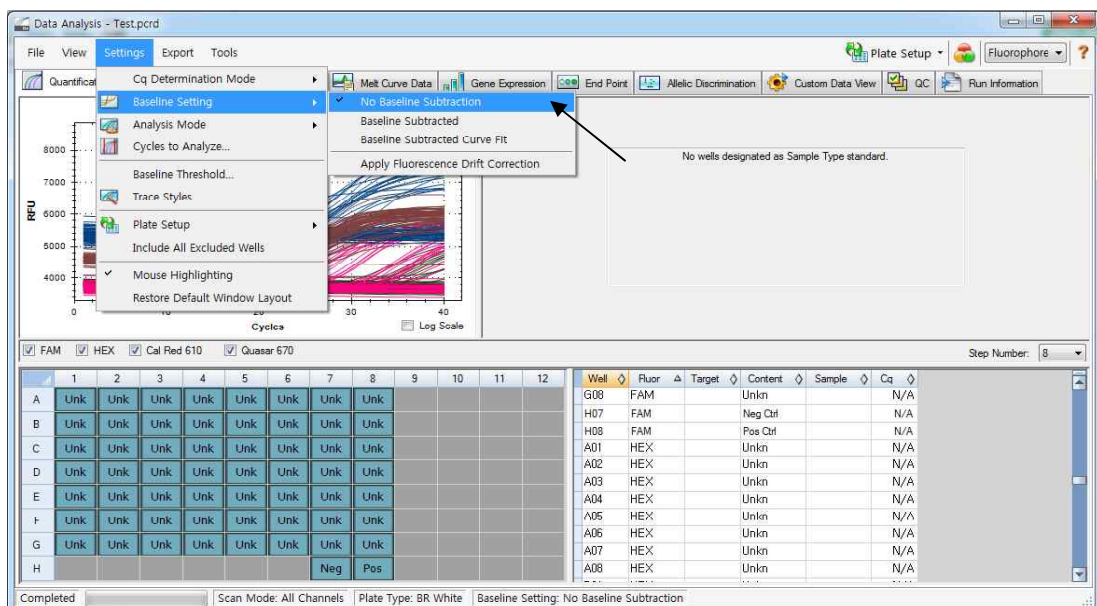


Fig. 10. No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación Seegene)** del menú **Export (Exportar)**.

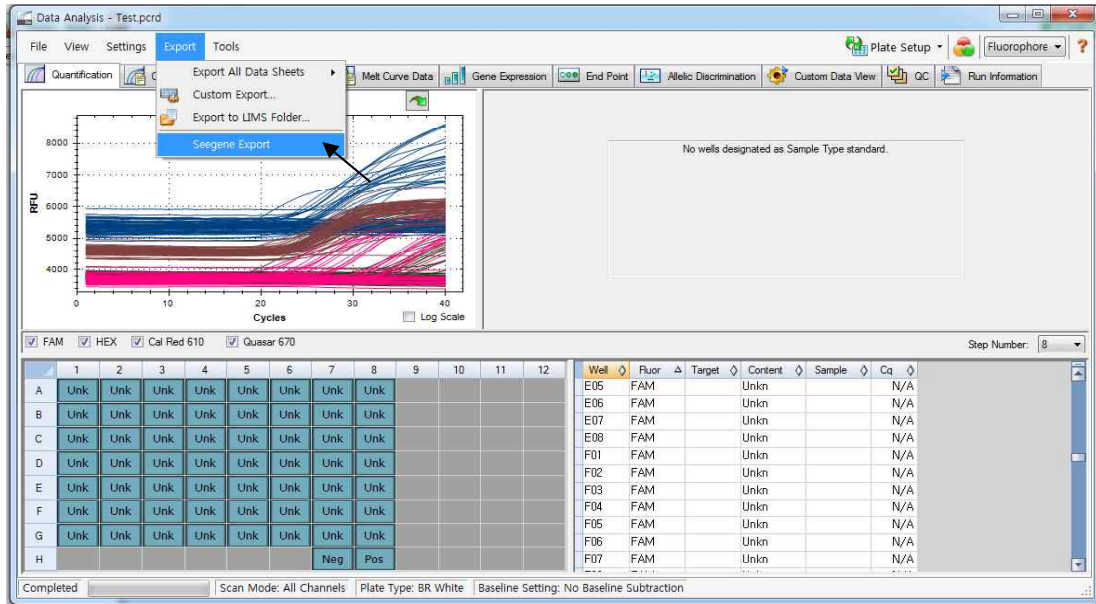


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación Seegene)**

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

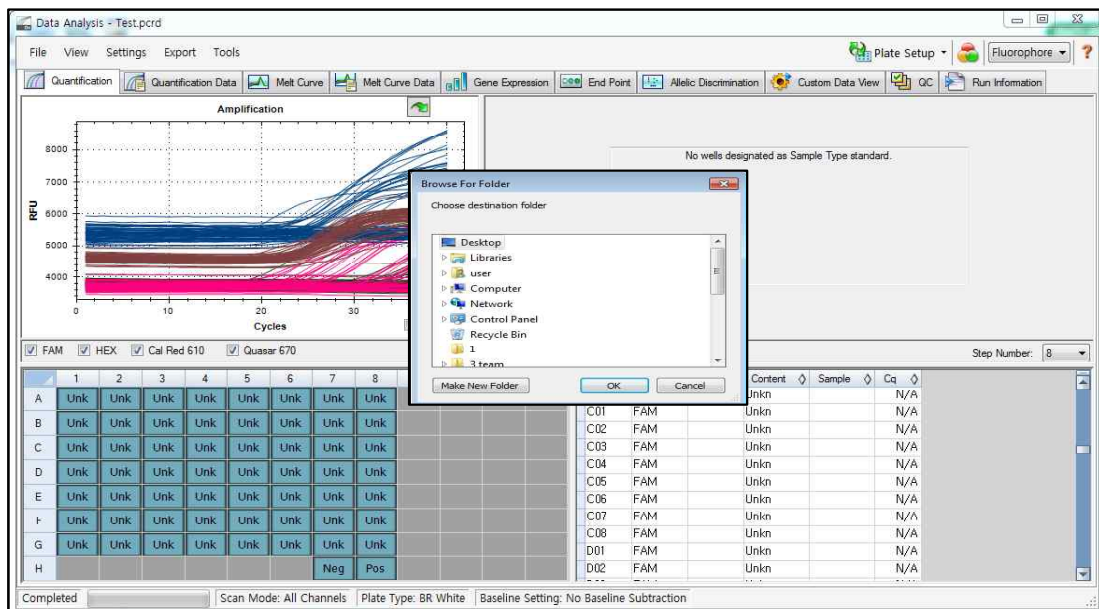


Fig. 12. **Seegene Export (Exportación Seegene) a la carpeta indicada**

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

C. Configurar el análisis de datos en Seegene Viewer

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

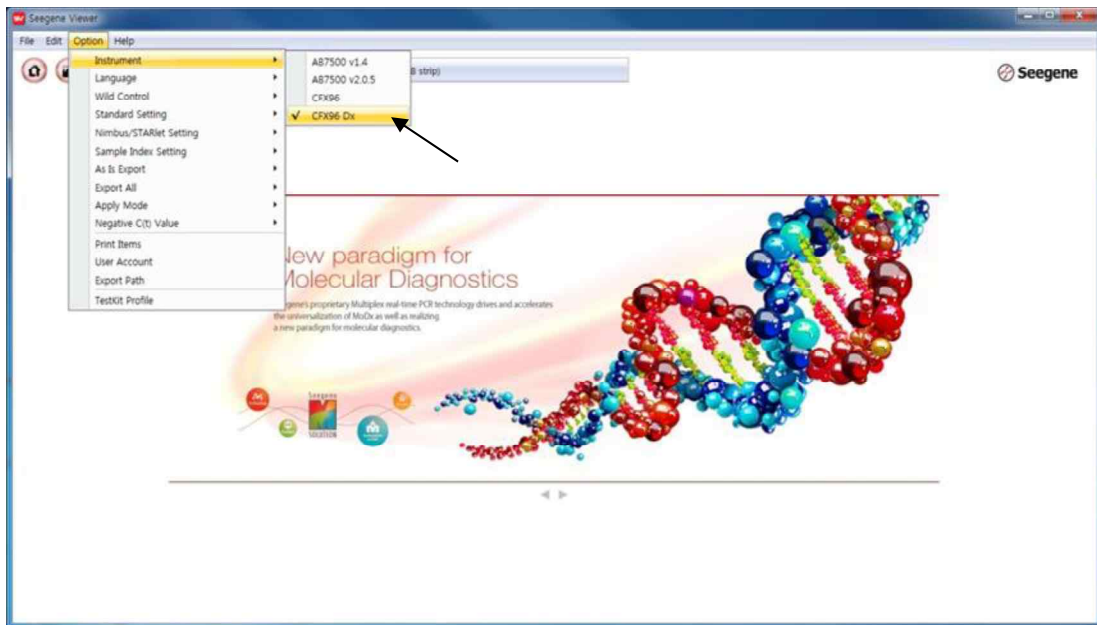


Fig. 13. Seegene Viewer

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)**.

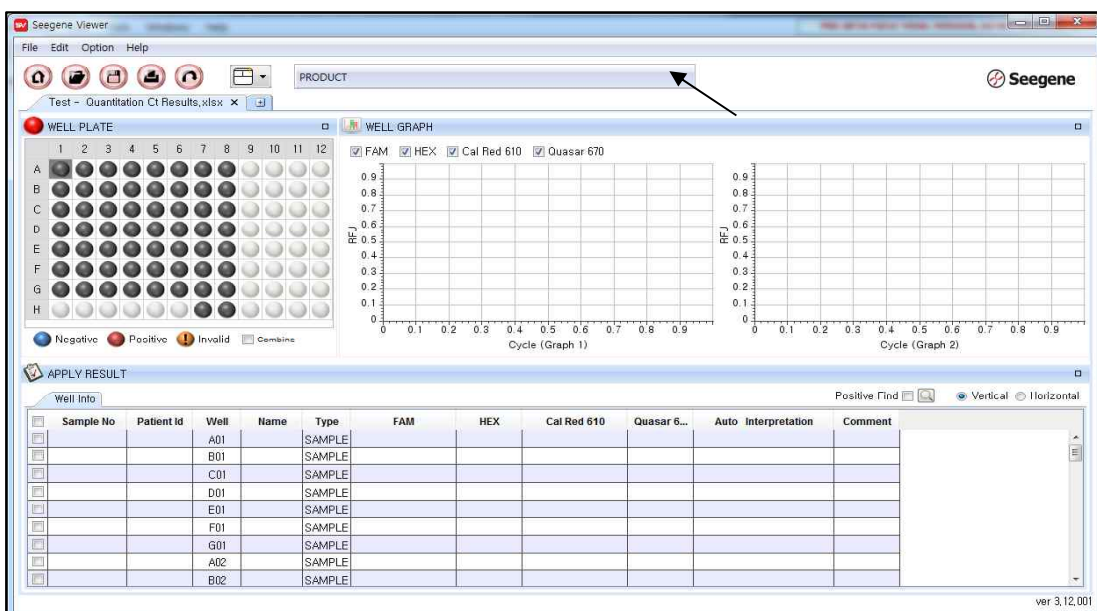


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en el Seegene Viewer

Nota: verifique el tipo de tubo al seleccionar el kit de prueba (8 strip / 96 cap / 96 film).

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

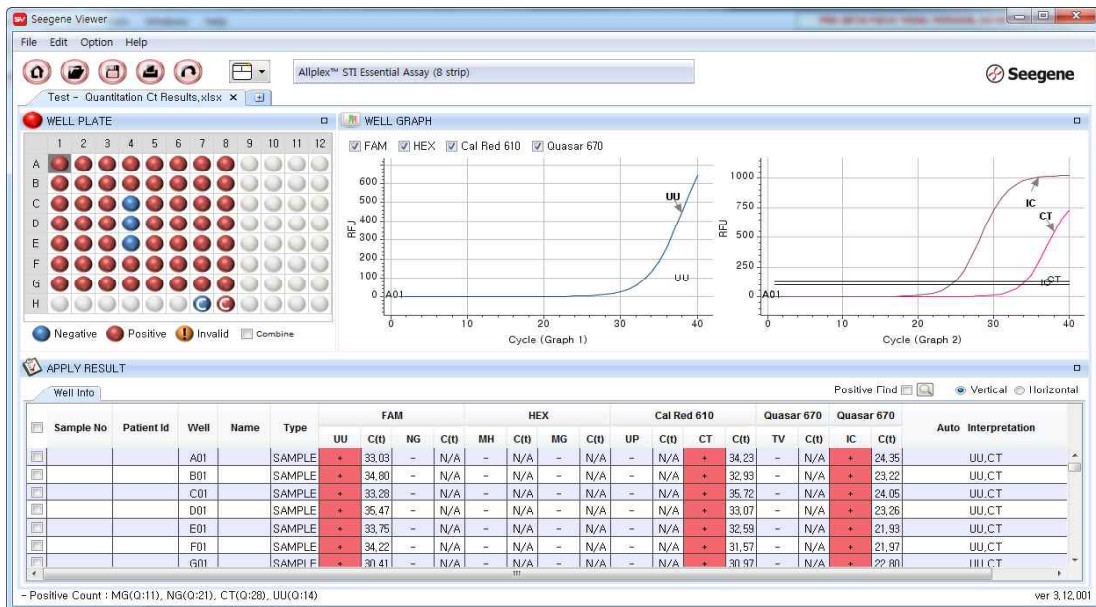


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

4) Criterios de validación de los resultados del control

a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez de los experimentos, las pruebas de PCR deben ir acompañadas de PC (Control Positivo) y NC (Control Negativo). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

Control	Resultado de Seegene Viewer								
	FAM (C _i)		HEX (C _i)		Cal Red 610 (C _i)		Quasar670 (C _i)		Interpretación automática
	UU	NG	MH	MG	UP	CT	TV	IC	
Control Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Control Positivo(+)
Control Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo(-)

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos de falla en la validación, los resultados no se deben interpretar ni notificar. Y se debe repetir la reacción del PCR

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	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (UU)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (NG)
HEX	<i>Mycoplasma hominis</i> (MH)	<i>Mycoplasma genitalium</i> (MG)
Cal Red 610	<i>Ureaplasma parvum</i> (UP)	<i>Chlamydia trachomatis</i> (CT)
Quasar 670	<i>Trichomonas vaginalis</i> (TV)	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. MARINA 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 adicionales de STI que no se han detectado pueden estar presentes.
-	+		
+	+		
-	-	+	Ácido nucleico objetivo, no detectado
-	-	-	No válido** - Una señal negativa de IC sugiere la recolección o el procesamiento inadecuado de muestras o la 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.

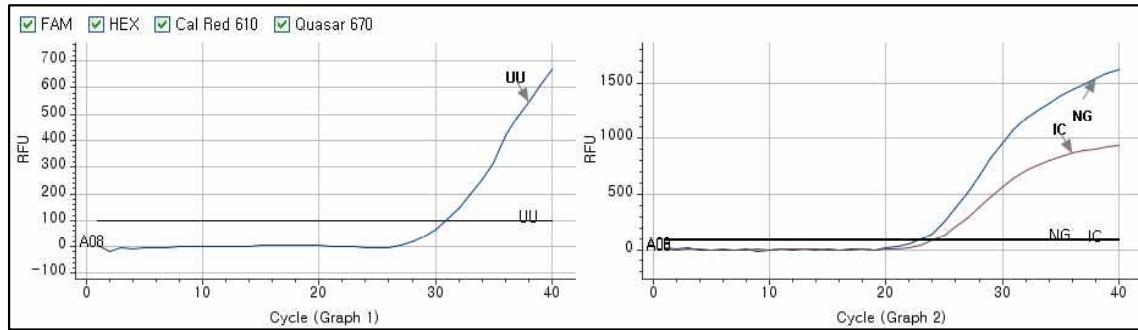
** Si no se observa ninguna de las señales que incluyan el Control Interno, véase SOLUCIÓN DE PROBLEMAS.

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

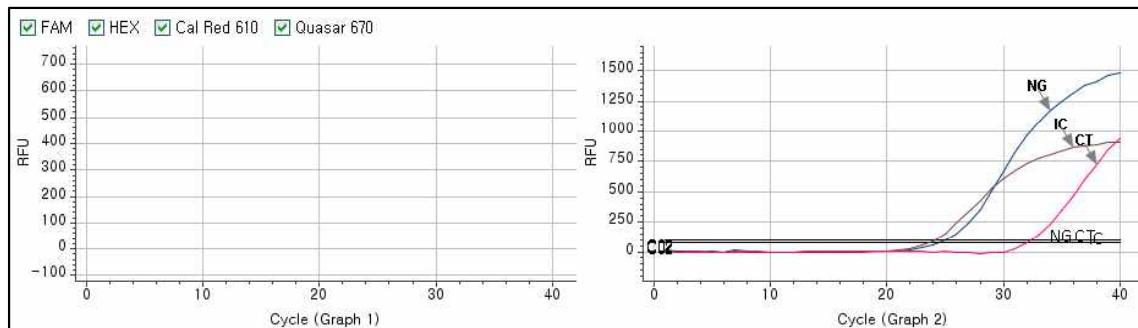
Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Aplicación a muestras clínicas

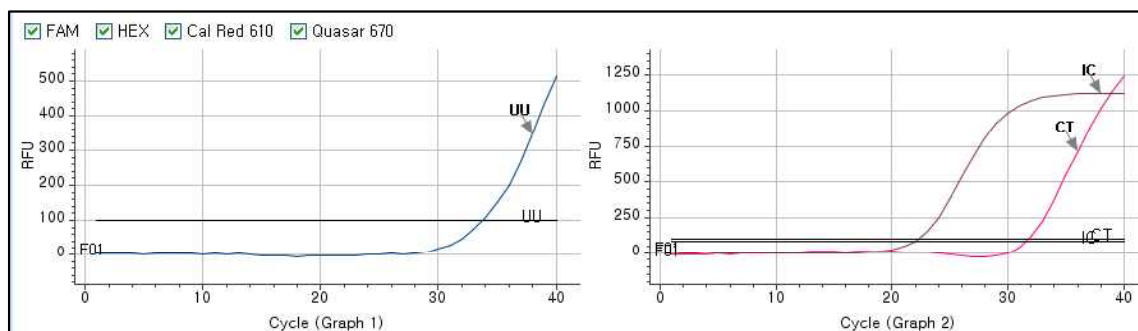
Muestra 1



Muestra 2



Muestra 3



Muestra	FAM				HEX				Cal Red 610				Quasar 670		Quasar 670		Interpretación Automática
	UU	C(t)	NG	C(t)	MH	C(t)	MG	C(t)	UP	C(t)	CT	C(t)	TV	C(t)	IC	C(t)	
1	+	30,96	+	23,19	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	23,97	UU,NG
2	-	N/A	+	25,09	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	32,42	-	N/A	+	23,76	NG,CT
3	+	33,76	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,80	-	N/A	+	21,82	UU,CT

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ STI Essential Assay		
OBSERVACIONES	POSIBLES CAUSAS	SOLUCIÓN
No se observa señal	Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo.	Seleccione los fluoróforos correctos 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 se debe a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra original o puede diluir la muestra con solución salina 1/3~1/10 veces y luego agregar ASTI IC a la muestra diluida. ASTI IC should be used only for urine specimen.
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.

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™ STI Essential 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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RENDIMIENTO
1. Especificidad

La alta especificidad de Allplex™ STI Essential Assay viene garantizada por los oligos diseñados específicamente para los objetivos de interés según las condiciones de reacción definidas. Allplex™ STI Essential Assay se probó para la reactividad cruzada de 123 patógenos diferentes, y la detección y amplificación de PCR solo se identificaron en los objetivos especificados.

Núm	Organismo	Fuente	Núm. aislado	Resultado [†]
1	Chlamydia trachomatis	ATCC	VR-1500	CT Detectado
2	Chlamydia trachomatis (LGV I)	ATCC	VR-901BD	CT Detectado
3	Chlamydia trachomatis (LGV II)	ATCC	VR-902BD	CT Detectado
4	Chlamydia trachomatis (LGV III)	ATCC	VR-903D	CT Detectado
5	Chlamydia trachomatis (serovar A)	ATCC	VR-571B	CT Detectado
6	Chlamydia trachomatis (serovar B)	ATCC	VR-573	CT Detectado
7	Chlamydia trachomatis (serovar Ba)	ATCC	VR-347	CT Detectado
8	Chlamydia trachomatis (serovar C)	ATCC	VR-1477	CT Detectado
9	Chlamydia trachomatis (serovar D)	ATCC	VR-885	CT Detectado
10	Chlamydia trachomatis (serovar E)	ATCC	VR-348B	CT Detectado
11	Chlamydia trachomatis (serovar F)	ATCC	VR-346	CT Detectado
12	Chlamydia trachomatis (serovar G)	ATCC	VR-878	CT Detectado
13	Chlamydia trachomatis (serovar H)	ATCC	VR-879	CT Detectado
14	Chlamydia trachomatis (serovar I)	ATCC	VR-880	CT Detectado
15	Chlamydia trachomatis (serovar J)	ATCC	VR-886	CT Detectado
16	Chlamydia trachomatis (serovar K)	ATCC	VR-887	CT Detectado
17	Mycoplasma genitalium	ATCC	33530	MG Detectado
18	Mycoplasma hominis	ATCC	15488	MH Detectado
19	Neisseria gonorrhoeae	ATCC	700825	NG Detectado
20	Neisseria gonorrhoeae	NCTC	13798	NG Detectado
21	Neisseria gonorrhoeae	NCTC	13800	NG Detectado
22	Trichomonas vaginalis	ATCC	30238	TV Detectado
23	Ureaplasma parvum	ATCC	27815	UP Detectado
24	Ureaplasma urealyticum	ATCC	27813	UU Detectado

25	Atopobium vaginae	KCTC	15240	No detectado
26	Acinetobacter baumannii	KCCM	35401	No detectado
27	Acinetobacter schindleri	KCTC	12409	No detectado
28	Acinetobacter ursingii	KCTC	12410	No detectado
29	Atopobium parvulum	KCOM	1530	No detectado
30	Bacteroides caccae	ATCC	43185	No detectado
31	Bacteroides fragilis	KCTC	5013	No detectado
32	Bacteroides ovatus	KCTC	5827	No detectado
33	Bacteroides vulgatus	ATCC	8482	No detectado
34	Bacteroides xylanisolvens	KCOM	3242	No detectado
35	Bifidobacterium adolescentis	KCTC	3216	No detectado
36	Bifidobacterium longum	KCTC	3421	No detectado
37	Bifidobacterium minimum	KCTC	3273	No detectado
38	Candida albicans	ATCC	10231D-5	No detectado
39	Candida dubliniensis	KCTC	17427	No detectado
40	Candida glabrata	KCCM	50044	No detectado
41	Candida krusei	KCCM	11426	No detectado
42	Candida lusitanae	KCCM	50541	No detectado
43	Candida orthopsilosis	ATCC	96139	No detectado
44	Candida parapsilosis	KCTC	7653	No detectado
45	Candida tropicalis	KCCM	32008	No detectado
46	Candida metapsilosis	ATCC	96144D	No detectado
47	Chlamydomphila pneumoniae	ATCC	VR-1310	No detectado
48	Chlamydomphila psittaci	Vircell	MBC013	No detectado
49	Clostridium difficile (Toxin A+ / B+)	NCTC	11209	No detectado
50	Clostridium perfringens	KCTC	3269	No detectado
51	Cytomegalovirus (CMV)	NIBSC	09/162	No detectado
52	Enterococcus avium	ATCC	14025	No detectado
53	Epstein Barr Virus	ATCC	VR-1492	No detectado
54	Escherichia coli	ATCC	25922	No detectado
55	Gardnerella vaginalis	KCTC	5096	No detectado
56	Haemophilus ducreyi	ATCC	700724D-5	No detectado
57	Haemophilus influenzae	KCTC	15481	No detectado
58	Hepatitis A virus (HAV)	ATCC	VR-1541	No detectado

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
PROBADA
BioSystems S.A.

59	Hepatitis B virus (HBV)	ATCC	VR-3232SD	No detectado
60	Hepatitis C virus (HCV)	ATCC	VR-3233SD	No detectado
61	Human herpesvirus 1	KBPV	VR-1493	No detectado
62	Human herpesvirus 2	KBPV	VR-734	No detectado
63	Human herpesvirus 3	ATCC	VR-1367	No detectado
64	Human Papilloma Virus 16	KCLB	30035	No detectado
65	Human Papilloma Virus 16	KCLB	21550	No detectado
66	Human Papilloma Virus 18	KCLB	10002	No detectado
67	Lactobacillus acidophilus	KCTC	3140	No detectado
68	Lactobacillus amylovorus	KCTC	3179	No detectado
69	Lactobacillus brevis	KCTC	3498	No detectado
70	Lactobacillus casei	KCTC	3260	No detectado
71	Lactobacillus crispatus	KCTC	5054	No detectado
72	Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii	KCTC	13730	No detectado
73	Lactobacillus fermentum	KCTC	3112	No detectado
74	Lactobacillus gallinarum	KCTC	5048	No detectado
75	Lactobacillus gasseri	KCTC	3163	No detectado
76	Lactobacillus helveticus	KCTC	15060	No detectado
77	Lactobacillus iners	CCARM	0123	No detectado
78	Lactobacillus intestinalis	KCTC	5052	No detectado
79	Lactobacillus jensenii	KCTC	5194	No detectado
80	Lactobacillus johnsonii	KCTC	3801	No detectado
81	Lactobacillus kefirifaciens	KCTC	5075	No detectado
82	Lactobacillus oris	KCCM	40993	No detectado
83	Lactobacillus parabuchneri	KCTC	3503	No detectado
84	Lactobacillus pentosus	KCTC	3120	No detectado
85	Lactobacillus plantarum	ATCC	700934	No detectado
86	Lactobacillus reuteri	KCTC	3594	No detectado
87	Lactobacillus rhamnosus	KCCM	32405	No detectado
88	Lactobacillus salivarius subsp. Salicinius	KCTC	3600	No detectado
89	Lactobacillus sanfranciscensis	KACC	12431	No detectado
90	Lactobacillus ultunensis	KCTC	5857	No detectado
91	Lactobacillus vaginalis	KCTC	3515	No detectado
92	Mobiluncus curtisii	ATCC	35241	No detectado

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

93	Mobiluncus mulieris	ATCC	35243	No detectado
94	Mycoplasma arginini	ATCC	23838	No detectado
95	Mycoplasma felis Cole et al.	ATCC	23391	No detectado
96	Mycoplasma iowae Jordan et al.	ATCC	33552	No detectado
97	Mycoplasma leonicaptivi Hill	ATCC	49890	No detectado
98	Mycoplasma pneumonia	ATCC	15531	No detectado
99	Mycoplasma pulmonis	ATCC	19612	No detectado
100	Mycoplasma spumans	ATCC	19526	No detectado
101	Neisseria cinerea	ATCC	14685	No detectado
102	Neisseria flavescens	CCARM	9264	No detectado
103	Neisseria lactamica	ATCC	23970	No detectado
104	Neisseria meningitidis	ATCC	700532D	No detectado
105	Neisseria mucosa	ATCC	19696	No detectado
106	Neisseria perflava	ATCC	14799D-5	No detectado
107	Neisseria sicca	ATCC	29256	No detectado
108	Neisseria subflava	ATCC	49275	No detectado
109	Prevotella bivia	KCTC	5454	No detectado
110	Prevotella buccalis	KCTC	5496	No detectado
111	Prevotella disiens	KCTC	5499	No detectado
112	Prevotella intermedia	KCTC	5692	No detectado
113	Prevotella melaninogenica	KCTC	5457	No detectado
114	Pseudomonas aeruginosa	KCCM	11328	No detectado
115	Saccharomyces cerevisiae	KCTC	7968	No detectado
116	Salmonella enteritidis	CCARM	8570	No detectado
117	Salmonella typhimurium	CCARM	0270	No detectado
118	Staphylococcus aureus	KCTC	1621	No detectado
119	Streptococcus agalactiae	ATCC	BAA-611D-5	No detectado
120	Streptococcus pneumoniae	ATCC	BAA-255D	No detectado
121	Treponema pallidum	ATCC	BAA-2642SD	No detectado
122	Trichomonas tenax	ATCC	30207	No detectado
123	Vibrio parahaemolyticus	KCTC	2471	No detectado

† 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.

- ※ ATCC: American Type Culture Collection
- NCTC: National Collection of Type Cultures
- KCTC: Korean Collection for Type Culture
- KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
- NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control
- Vircell : Vircell microbiologists
- CCARM: Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microbes
- KACC: Korean Agricultural Culture Collection
- KBPV: Korea Bank for Pathogenic Viruses
- KCLB: Korean Cell Line Bank

2. Sensibilidad

La sensibilidad se define como la concentración más baja de dado organismo que puede detectarse sistemáticamente ($\geq 95\%$ de resultados positivos entre todas las muestras analizadas). Fue confirmado por objetivo obteniendo los resultados correctos del organismo/ensayo en al menos 40 de las 40 muestras analizadas (40/40 = 100%).

La sensibilidad del Allplex™ STI Essential Assay se determinó utilizando la cepa objetivo de cada unidad de muestra de valor cuantitativo aproximado de 10^3 a 10^9 . Los límites de detección para UU, NG, MH, MG, UP y TV fueron tal como se muestran en la siguiente tabla.

Núm	objetivo	LoD
1	<i>Ureaplasma urealiticum</i>	100 CFU/ml
2	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 CFU/ml
3	<i>Mycoplasma hominis</i>	50 CFU/ml
4	<i>Mycoplasma genitalium</i>	50 CCU/ml
5	<i>Ureaplasma parvum</i>	50 CCU/ml
6	<i>Trichomonas vaginalis</i>	10 células/ml

En el caso de la *Chlamydia Trachomatis*, se utilizaron dos tipos de materiales (ATCC VR-1500 y ZMC 0801775) para la sensibilidad de Allplex™ STI Essential Assay;

- 1) Ácidos nucleicos extraídos y cuantificados como copias genómicas/rxn
- 2) Estado celular cuantificado como IFU/ml

La sensibilidad para *Chlamydia Trachomatis* se confirmó como la menor concentración para la cual se detectaron, al menos, $\geq 95\%$ de las réplicas, según;

	Copias genómicas/rxn		IFU/ml ¹⁾	
<i>Chlamydia</i>	ATCC VR-1500	10 copias/rxn	ATCC VR-1500	10 IFU/ml
<i>Trachomatis</i>	ZMC 0801775	10 copias/rxn	ZMC 0801775	40 IFU/ml

En el caso de utilizar el título funcional en IFU/ml, podría haber una discordancia entre los organismos estándar que se utilizarán.

¹⁾ Nota: La unidad IFU es un método de medición del título funcional en lugar del valor absoluto y se ve afectado por el protocolo de medida de la institución, la persona, el tiempo y el estado de la cepa en el momento de la medida. Por lo tanto, indica la diferencia en unidades IFU en función de las características de la cepa utilizada en el momento del experimento y no la diferencia en el rendimiento de sensibilidad del propio producto por cepa.

3. Reproducibilidad

Se preparó el panel de reproducibilidad de 21 analitos simulados que incluía muestras negativas altas (0,1X LoD), positivas bajas (1X LoD) y positivas moderadas (3X LoD). En cada sitio de prueba, el panel se probó durante cinco días, dos ejecuciones por día realizadas por dos operadores diferentes y usando en triplicado cada panel por ejecución de una extracción. Se realizó la prueba con un solo lote de Allplex™ STI Essential Assay en tres sitios diferentes y con tres lotes en un sitio interno. Se observaron tasas positivas para cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,00% para muestras positivas moderadas, $\geq 100,00\%$ para muestras positivas bajas y $\geq 7,33\%$ para muestras negativas altas.

La reproducibilidad del Allplex™ STI Essential Assay se evaluó entre sitios, lotes de productos y experimentadores.

Los resultados cumplieron los criterios que se mencionan arriba, lo que confirma el desempeño reproducible del Allplex™ STI Essential Assay.

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se realizó con sustancias interferentes compuestas de 15 sustancias, para confirmar el rendimiento del ensayo Allplex™ STI Essential Assay en presencia de posibles sustancias interferentes. No hubo efectos en el resultado al agregar las sustancias: detección no específica o inhibición en la amplificación del objetivo. Basándose en los resultados, de 15 sustancias interferentes ninguna tuvo un efecto en los resultados del Allplex™ STI Essential Assay.

Núm	Sustancias interferentes	Concentración
1	Metronidazole	701 µmol/L
2	Amoxicillin	206 µmol/L
3	Bilirubin	342 µmol/L
4	Hemoglobin human	200 g/L
5	Progesterone	20 ng/mL
6	Progesterone	4,41 nmol/L
7	Acetylsalicylic Acid (aspirin)	3,62 mmol/L
8	Glucose	55 mmol/L
9	Albumin (BSA)	60 g/L
10	Mucin	3 mg/mL
11	Testosterone	41,6 nmol/L
12	Luteinizing hormone (LH)	70 IU/L
13	Follicle Stimulating Hormone (FSH)	100 IU/L
14	Cortisol	828 nmol/L
15	Fructose	1000 µmol/L

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 226 muestras clínicas se analizaron con Allplex™ STI Essential Assay y con un ensayo de referencia.

La concordancia entre el ensayo Allplex™ STI Essential Assay (V2.0) y el ensayo de referencia, con el reflejo de la confirmación de la secuenciación, fue de 99,12%, 100%, 100%, 100%, 100%, 99,56% y 99,56% para la detección de CT, NG MG, TV, MH, UU y UP, respectivamente.

La validez clínica del Allplex™ STI Essential Assay (V2.0) ha sido demostrada en el diagnóstico de siete analitos de STI, ya que los resultados satisfacen los criterios de aceptación.

Analito	PPA (comparado con ensayo de referencia)			NPA (comparado con ensayo de referencia)			Concordancia		
	TP/ (TP+FN)	% ^{a)}	95% CI ^{c)}	TN/ (TN+FP)	% ^{b)}	95% CI ^{c)}	(TP+TN) /Total	% ^{d)}	95% CI ^{c)}
<i>Ureaplasma urealiticum</i> (UU)	30/30	100,00	88,43 ~ 100,00	195/196	99,49	97,19 ~ 99,99	225/226	99,56	97,56 ~ 99,99
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (NG)	53/53	100,00	93,28 ~ 100,00	173/173	100,00	97,89 ~ 100,00	226/226	100,00	98,38 ~ 100,00
<i>Mycoplasma hominis</i> (MH)	45/45	100,00	92,13 ~ 100,00	181/181	100,00	97,98 ~ 100,00	226/226	100,00	98,38 ~ 100,00
<i>Mycoplasma genitalium</i> (MG)	35/35	100,00	90,00 ~ 100,00	191/191	100,00	98,09 ~ 100,00	226/226	100,00	98,38 ~ 100,00
<i>Ureaplasma parvum</i> (UP)	83/83	100,00	95,65 ~ 100,00	142/143	99,30	96,17 ~ 99,98	225/226	99,56	97,56 ~ 99,99
<i>Chlamydia trachomatis</i> (CT)	37/38	97,37	86,19 ~ 99,93	187/188	99,47	97,07 ~ 99,99	224/226	99,12	96,84 ~ 99,89
<i>Trichomonas vaginalis</i> (TV)	31/31	100,00	88,78 ~ 100,00	195/195	100,00	98,13 ~ 100,00	226/226	100,00	98,38 ~ 100,00

a) PPA (Concordancia de porcentaje positivo) (%): $100 \times TP/(TP+FN)$

b) NPA (Concordancia de porcentaje negativo) (%): $100 \times TN/(FP+TN)$

c) Se calcularon los intervalos de confianza bilaterales del 95%.

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

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REFERENCIAS

1. Agata Baczynska. [Development of real-time PCR for detection of Mycoplasma hominis.] BMC Microbiology. (2004). 4(35): 1471-2180
2. Aguilera-Arreola MG, González-Cardel AM, Tenorio AM, Curiel-Quesada E, Castro-Escarpulli G. [Highly specific and efficient primers for in-house multiplex PCR detection of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum.] BMC Res Notes. (2014). Jul 6;7:433
3. Fanrong Kong. [Postgenomic taxonomy of human ureaplasmas – a case study based on multiple gene sequences.] International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. (2004). 54: 1815–1821
4. Helle Friis Svenstrup. [Development of a Quantitative Real-Time PCR Assay for Detection of Mycoplasma genitalium.] JCM. (2005). 43(7): 3121–3128
5. Jackson CR, Fedorka-Cray PJ, and Barrett JB. [Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci.] JCM. (2004) 42(8): 3558–3565
6. Jonathon Keck, James P. Chambers, Thomas Forsthuber, Rishin Gupta, Bernard P. Arulanandam [A modified method for rapid quantification of Chlamydia muridarum using Fluorospot] MethodsX 6 (2019) 1925-1932
7. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] Seegene Bulletin. (2012) 1: 1-4.
8. 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
9. Kathleen A. and Stellrecht. [Comparison of Multiplex PCR Assay with Culture for Detection of Genital Mycoplasmas.] JCM. (2004). 42(4): 1528–1533
10. Kim SJ, Lee DS, Lee SJ. [The prevalence and clinical significance of urethritis and cervicitis in asymptomatic people by use of multiplex polymerase chain reaction.] Korean J Urol. (2011) 52(10):703-708
11. Lee DH. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] Seegene Bulletin (2012) 1: 5-10
12. Lee SJ, Park DC, Lee DS, Choe HS, Cho YH. [Evaluation of Seeplex® STD6 ACE Detection kit for the diagnosis of six bacterial sexually transmitted infection.] J Infect Chemother. (2012) 18(4):494-500
13. Madico G, Quinn TC, Rompalo A, McKee KT Jr, and Gaydos CA. [Diagnosis of Trichomonas vaginalis Infection by PCR Using Vaginal Swab Samples.] JCM. (1998) 36(11): 3205-3210
14. 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.
15. Mata A. I, Gibello A, Casamayor A, Blanco M. M, Domínguez L, and Fernández-Garayzábal J. F. [Multiplex PCR Assay for Detection of Bacterial Pathogens Associated with Warm-Water Streptococcosis in Fish.] APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. (2004). 70(5): 3183–318
16. Samra Z, Rosenberg S, Madar-Shapiro L. [Direct simultaneous detection of 6 sexually transmitted pathogens from clinical specimens by multiplex polymerase chain reaction and auto-capillary electrophoresis.] Diagn

Microbiol Infect Dis.(2011) 70(1):17-21

















17. Wood H., Reischl U., Peeling R.W. [Rapid Detection and Quantification of Chlamydia trachomatis in Clinical Specimens by LightCycler PCR] Rapid Cycle Real-Time PCR — Methods and Applications. Springer, Berlin, Heidelberg (2002) 115-132

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


Dr. 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 oligonucleótidos 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
	Contém o suficiente para <n> testes

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN DE PEDIDO

Núm. cat.	Producto	Tamaño
Serie Allplex™		
SD10245Z	Allplex™ STI Essential Assay	25 rxns*
SD9801Y	Allplex™ STI Essential Assay	50 rxns
SD9801X	Allplex™ STI Essential Assay	100 rxns*
SD10177Z	Allplex™ Genital ulcer Assay	25 rxns*
SD9802Y	Allplex™ Genital ulcer Assay	50 rxns
SD9802X	Allplex™ Genital ulcer 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.

Serie Anyplex™

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 hasta 40 de 50.

(50 rxns → 40 rxns)

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Serie Seeplex®

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
EX00013C	STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C 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
EX00017P	STARMag 96 ProPrep C (Plate Type)	96T / 1box
EX00017T	STARMag 96 ProPrep C (Tube Type)	96T / 1box

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ROTULOS

1) Allplex™ STI Essential Assay (SD9801Y)

Externo:



The label features a QR code at the top left, the Allplex™ logo, and the CE 2797 IVD mark. The product name 'STI Essential Assay' is prominently displayed. Below this, the reference number 'REF SD9801Y' and lot number 'LOT SD0519A02' are provided. A vertical barcode on the left side contains the numbers (01) 08809240100684 (11) 190102 and (17) 200101 (10) SD0519A02 (21) 0071. The label also includes icons for a vial, a book, a graph, and a thermometer, along with the dates 2020-01-01 and 2019-01-02. At the bottom, it lists the manufacturer 'MT Promedt Consulting GmbH' and their address in St. Ingbert, Germany. A second QR code is located at the bottom left of the label.

Information of components included in kit

- 1 vial of SARS2 MOM
- 1 vial of EM8
- 1 vial of SC2M PC
- 1 vial of RNase-free Water



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

Importado por

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

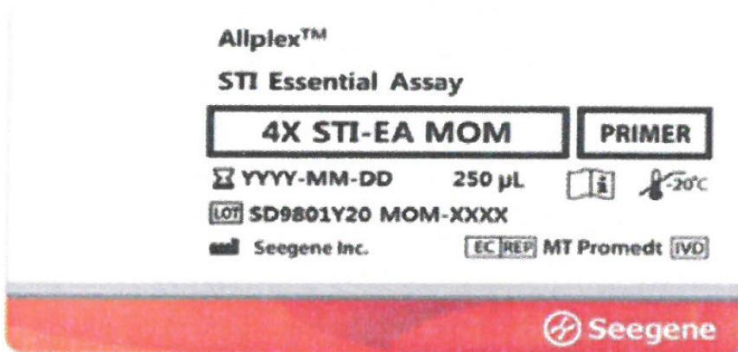
Autorizado por ANMAT N°: PM-626-166

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

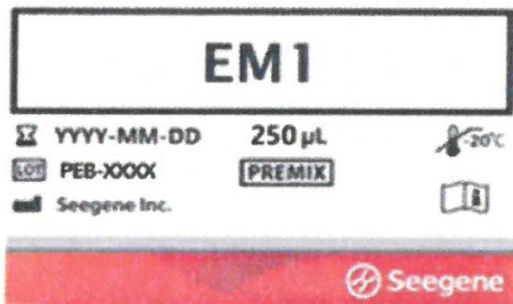
Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Internos:

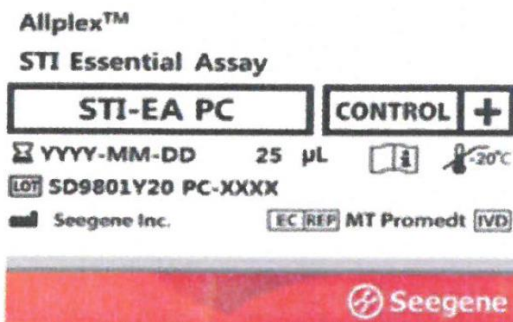
1) 4X STI-EA MOM



2) EM1



3) STI-EA PC



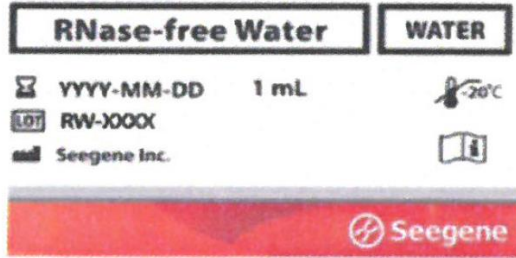
4) ASTI IC



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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

5) RNase-free Water



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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APDDERADA
BioSystems S.A.

2) Allplex™ STI Essential Assay (SD9801X)

Externos:



Allplex™



STI Essential Assay

(01) 08809240100691 (11) 190102
(17) 200101 (10) SD0619A02 (21) 0073

REF SD9801X Σ 100

LOT SD0619A02



2020-01-01

2019-01-02



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



Allplex™

STI Essential Assay

(only for NIMBUS, STARlet)

Information of components included in kit

1 vial of SARS2 MOM

1 vial of EM8

1 vial of SC2M PC

1 vial of RNase-free Water



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

Importado por

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN 17503

Producto para Diagnostico de uso In Vitro

Uso Profesional Exclusivo

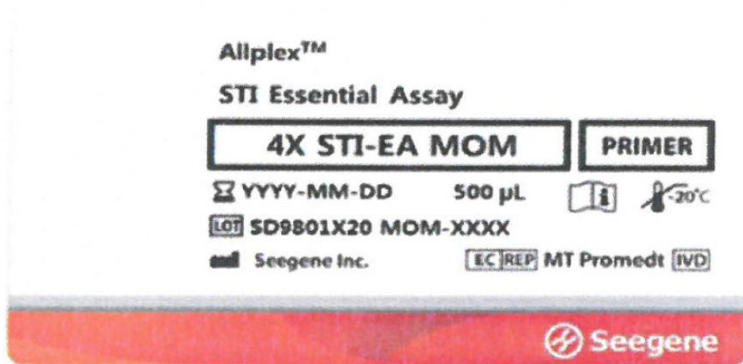
Autorizado por ANMAT N°: PM-626-166

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

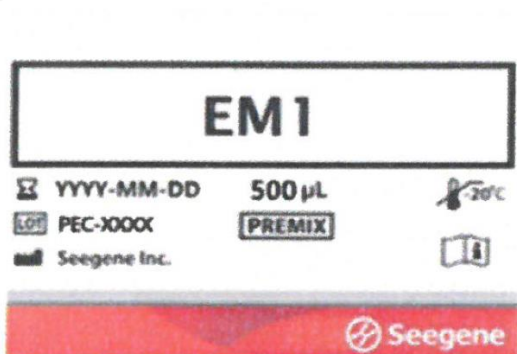
Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Internos:

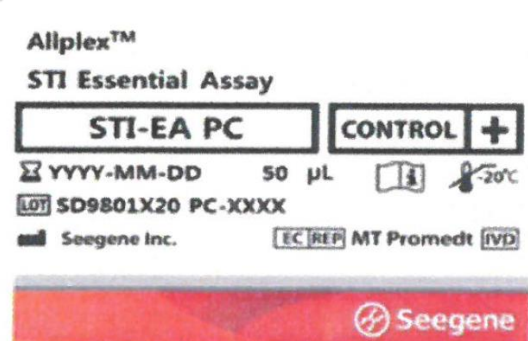
1) 4X STI-EA MOM



2) EM1



3) STI-EA PC



4) ASTI IC



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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

5) RNase-free Water



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
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: rot, e, inst, de uso-BIOSYSTEMS S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 118 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.03.20 10:45:43 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.03.20 10:45:47 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005439-22-8

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

Expediente Nº 1-0047-3110-005439-22-8

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 Descriptivo: Allplex STI Essential Assay

Marca comercial: Seegene

Modelos:

Allplex STI Essential Assay (SD9801Y) x 50 determinaciones.

Allplex STI Essential Assay (SD9801X) x 100 determinaciones.

Indicación/es de uso:

Allplex STI Essential Assay es una prueba cuantitativa in vitro para la detección simple o múltiple de C.

trachomatis (CT), N. gonorrhoeae (NG), M. genitalium (MG), M. hominis (MH), U. urealyticum (UU), U. parvum (UP), and T. vaginalis (TV), en muestras de orina, hisopo genital, citología en medio líquido y semen.

Forma de presentación: Allplex STI Essential Assay (SD9801Y) x 50 determinaciones:

- 1) 4X STI-EA MOM (Reactivo de amplificación y detección: Mezcla de oligos de MuDT (MOM) 1 x 250 μ L
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG); Buffer que contiene dNTPs) 1 x 250 μ L.
- 3) STI-EA 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 1mL.

Allplex STI Essential Assay (SD9801X) x 100 determinaciones:

- 1) 4X STI-EA MOM (Reactivo de amplificación y detección: Mezcla de oligos de MuDT (MOM) 1 x 500 μ L
- 2) EM1 (ADN polimerasa; Uracilo-ADN glicosilasa (UDG); Buffer que contiene dNTPs) 1 x 500 μ L.
- 3) STI-EA 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 1000 μ L
- 5) RNase-free Water (Calidad ultrapura, grado PCR) 1 x 1mL.

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 626-166 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-005439-22-8

N° Identificador Trámite: 41283

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica

Date: 2023.04.04 23:39:58 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica

Date: 2023.04.04 23:39:58 -03:00