



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005744-23-2

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-005744-23-2 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones MEDICA-TEC S.R.L. 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 PCR para HPV.

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;

LA ADMINISTRADORA 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 PCR para HPV de acuerdo con lo solicitado por MEDICA-TEC S.R.L. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2023-150295607-APN-INPM%ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 118-153 ", 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: PCR para HPV

Marca comercial: Vitassay

Modelos:

- 1) Vitassay qPCR HPV
- 2) Vitassay qPCR High-Risk HPVs

Indicación/es de uso:

1) Vitassay qPCR HPV: PCR en tiempo real para la detección cualitativa y diferenciación del virus del papiloma humano 16 y del virus del papiloma humano 18 en muestras humanas.

2) Vitassay qPCR High-Risk HPVs: PCR en tiempo real para la detección cualitativa simultanea de DNA genómico específico para 14 virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68), y la identificación de los dos genotipos principales, VPH 16 y VPH 18, en muestras cervicales

Forma de presentación: Ambos modelos poseen las mismas formas de resentación, Kit para 32 determinaciones bajo perfil y kit para 32 determinaciones alto perfil.

1) Vitassay qPCR HPV

- Kit para 32 determinaciones, bajo perfil. Unidad de venta por kit (1 caja)

Cada caja contiene:

HPV Strips , 4 tiras de 8 pocillos (1 Bolsa de aluminio)

HPV Positive Control, 1 vial para 20 det (1 frasco)

PCR grade water, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Resuspension buffer, 1 vial x 1,8 ml (1 frasco)

Negative control, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Tapas ópticas, 4 tiras de 8 tapones (1 bolsa)

Formato para Termocicladores con bloque de bajo perfil

- Kit para 32 determinaciones, alto perfil, Unidad de venta por kit (1 caja)

Cada caja contiene:

HPV Strips, 4 tiras de 8 pocillos (1bolsa de aluminio)

HPV Positive Control, 1 vial para 20 det (1 frasco)

PCR grade water, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Resuspension buffer, 1 vial x 1,8 ml (1 frasco)

Negative control, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Tapas ópticas, 4 tiras de 8 tapones (1 bolsa)

Formato para Termocicladores con bloque de alto perfil

2) Vitassay qPCR High-Risk HPVs

- Kit para 32 determinaciones, bajo perfil, Unidad de venta por kit (1 caja)

Cada caja contiene:

High-Risk HPVs 1 Srtips , 4 tiras de 8 pocillos + High-Risk HPVs 2 Srtips , 4 tiras de 8 pocillos (1 bolsa de aluminio)

High-Risk HPVs Positive Control, 1 vial para 40 det 81 frasco

PCR grade water, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Resuspension buffer, 1 vial x 1,8 ml (1 frasco)

Negative control, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Tapas ópticas, 8 tiras de 8 tapones (1 bolsa)

Formato para Termocicladores con bloque de bajo perfil

- Kit para 32 determinaciones, alto perfil. Unidad de venta por kit (1 caja)

Cada caja contiene:

High-Risk HPVs 1 Srtips , 4 tiras de 8 pocillos + High-Risk HPVs 2 Srtips , 4 tiras de 8 pocillos (1 bolsa de aluminio)

High-Risk HPVs Positive Control, 1 vial para 40 det (1 frasco)

PCR grade water, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Resuspension buffer, 1 vial x 1,8 ml (1 frasco)

Negative control, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Tapas ópticas, 8 tiras de 8 tapones (1 bolsa)

Formato para Termocicladores con bloque de alto perfil

Período de vida útil y condición de conservación: Vida útil: 24 meses
Conservación : de 2 a 40°C

Nombre del fabricante:
Vitassay Healthcare S.L.

Lugar de elaboración:
Parque Tecnológico Walqa N-330 Km.566, 22197
HUESCA- España

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente Nro:
1-0047-3110-005744-23-2

N° Identificadorio Trámite: 52598

Digitally signed by PEARSON Enriqueta Maria
Date: 2024.01.29 17:21:30 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Vitassay

Real-Time PCR Kits

Vitassay qPCR HPV

PCR en tiempo real para la detección cualitativa y diferenciación del virus del papiloma humano 16 y del virus del papiloma humano 18 en muestras humanas.

Real-time PCR kit for the qualitative detection and differentiation of human papilloma virus 16 and papilloma virus 18 in human samples.


Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA M.N. 7440

CE IVD

ES EN



Uso previsto

Vitassay qPCR HPV, permite la detección y diferenciación del virus del papiloma humano 16 y/o del virus del papiloma humano 18 mediante PCR a tiempo real en muestras clínicas. El objetivo de este producto es facilitar el diagnóstico diferencial de infecciones producidas por los Virus del papiloma humano 16 y 18.

Referencias

Vitassay qPCR HPV 4x8-well strip, low profile	7041037
Vitassay qPCR HPV 4x8-well strip, high profile	7042037

Reactivos suministrados

Para las referencias 7041037 y 7042037:

Código	Reactivo/Material	Color	Cantidad
7041S037/ 7042S037	HPV strips low/high profile	-	4 tiras de 8 pocillos
7C037	HPV Positive Control	rojo	1 vial
7001A	PCR grade water	blanco	1 vial x 1 mL
7002B	Resuspension buffer	verde	1 vial x 1,8 mL
7003N	Negative control	amarillo	1 vial x 1 mL
7004O	Tapas ópticas	-	4 tiras de 8 tapones

Material y equipamiento necesario, no proporcionado

- Kit de extracción de DNA
- Equipo de PCR a tiempo real (ver Adjunto I)
- Centrifuga para tubos de 1,5 mL
- Vórtex
- Micropipetas (1-20 µL, 20-200 µL)
- Puntas con filtro
- Guantes desechables sin polvo

Condiciones de Transporte y conservación

- El transporte y almacenaje de los kits puede realizarse de 2-40°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- El control positivo resuspendido debe ser almacenado a -20°C. Para evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, se recomienda distribuir en alícuotas.
- Conservar los reactivos en oscuridad.

Resumen

El virus del papiloma humano (VPH) es el responsable de la infección de transmisión sexual (ITS) más frecuente del tracto reproductivo. Este virus es tan común que casi todas las mujeres y todos los hombres sexualmente activos lo contraen en algún momento de su vida.

Se conocen más de 200 tipos de VPH y se han clasificado predominantemente en tres géneros: Alpha-papilomavirus, Beta-papilomavirus y Gamma-papilomavirus. Entre los 65 tipos de VPH pertenecientes a Alpha-HPV, hay 15 genotipos asociados con mayor frecuencia a los casos de cáncer de cuello uterino, se les denomina HPV de alto riesgo, (HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 y 82) siendo el tipo 16 responsable de más del 50% de los casos de carcinoma de células escamosas.

La transmisión se produce por contactos sexuales y los órganos más susceptibles de infección son el cuello uterino y la línea pectínea del canal anal. Las infecciones por HPV son frecuentemente en sábanas, en cuyos casos el DNA viral puede recuperarse del cuello uterino, vulva, vagina, canal anal, pene y escroto. La mayoría de las infecciones por VPH no causan síntomas o enfermedades y se

resuelven espontáneamente. Pero cuando el VPH no desaparece, puede causar problemas de salud como verrugas genitales, papilomatosis respiratoria y cáncer cervical, anogenital y orofaríngeo.

Los tumores del tracto genital femenino representan una quinta parte de los tumores de la mujer según estimaciones mundiales. El tumor más frecuente es el de cáncer de cuello uterino (9,9%), seguido del cáncer de ovario (1%), endometrio (4%) y de los cánceres de vagina y de vulva (1%). Estos datos son de particular importancia en los países en desarrollo, debido a la falta de programas adecuados de detección del cáncer de cuello uterino. En particular, VPH 16 y 18 son los que con mayor frecuencia pueden conducir a lesiones precancerosas. Además, tanto hombres como mujeres pueden desarrollar cáncer de boca / garganta y ano / recto causado por infecciones de VPH. Los hombres también pueden desarrollar cáncer de pene. En la actualidad, existen vacunas que podrían prevenir la infección con los tipos de VPH que con mayor frecuencia causan cáncer.

Se han desarrollado una variedad de métodos de diagnóstico de diferente sensibilidad y especificidad para detectar el VPH en muestras de piel, orales y anogenitales (principalmente, raspados cervicales y biopsias). Como el VPH no se puede cultivar de manera eficiente y el rendimiento clínico de los análisis serológicos es deficiente, el diagnóstico de la infección por el VPH se basa casi por completo en herramientas moleculares. Actualmente, la PCR en tiempo real ofrece una alta sensibilidad y se puede realizar en diferentes tipos de muestras.

Principio de la prueba

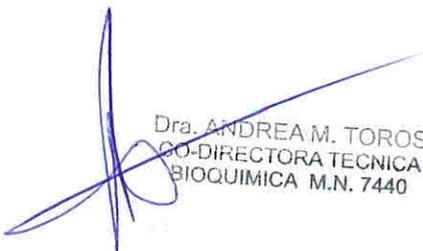
Vitassay qPCR HPV se basa en la amplificación a tiempo real de una región conservada del gen L2 para el virus del papiloma humano 16 y del gen L1 para el virus del papiloma humano 18. Tras la extracción de DNA, la presencia de DNA viral se detecta mediante un aumento de la fluorescencia observada durante la reacción, tras la hidrólisis de la sonda fluorescente.

Vitassay qPCR HPV se trata de una prueba lista para usar que contiene en cada pocillo todos los reactivos necesarios en formato estabilizado para llevar a cabo la PCR a tiempo real. Además, un control interno permite la detección de una posible reacción de inhibición. Los canales de detección de las secuencias diana se describen a continuación:

Diana	Canal detección
Virus del papiloma humano 16	FAM
Virus del papiloma humano 18	HEX, VIC o JOE (según el equipo utilizado)
Control Interno (CI)	Cy5

Precauciones

- Diseñado para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- No utilizar el kit después de la fecha de caducidad.
- No mezclar reactivos de otros kits y/o diferentes lotes.
- No utilizar si el kit tiene signos de haber sido abierto o manipulado.
- No utilizar el kit si el material desecante de los diferentes sobres de aluminio está dañado o no está.
- Se recomienda proteger los tubos de la humedad ya que una exposición prolongada puede afectar al rendimiento del producto.
- Trabajar siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio. Use ropa protectora, guantes desechables, gafas y mascarilla.
- No comer, beber o fumar en la zona de trabajo.
- Es importante seguir un flujo de trabajo en el laboratorio unidireccional: Área de Extracción, Área de Amplificación y Detección. No retornar muestras, equipos ni reactivos a un área anterior.
- Las muestras y todo material en contacto con ellas se deben tratar como potencialmente infecciosos y se deben gestionar según la legislación sobre residuos sanitarios nacional. Tome las precauciones necesarias durante la recogida, almacenamiento, tratamiento y eliminación de muestras.
- Se recomienda la descontaminación periódica de los equipos usados habitualmente, especialmente micropipetas, y de las superficies de trabajo.


 Dra. ANDREA M. TOROS
 CO-DIRECTORA TECNICA
 BIOQUIMICA M.N. 7440

Procedimiento

Toma de muestra, preparación y extracción de DNA

Realizar el pretratamiento y el aislamiento de los ácidos nucleicos utilizando un sistema manual o automático compatible con ensayos de PCR en tiempo real. Seguir las instrucciones de uso del fabricante. Los siguientes kits de extracción han sido validados:

- Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification Kit (Promega)
- QIAamp Viral RNA Mini Kit, utilizando QIAcube instrument (Qiagen)
- NucleoMag® Pathogen (Macherey Nagel)
- NucleoSpin RNA Virus (Macherey Nagel)
- MagDEA Dx SV kit con magLEAD® 6gC instrument (Precision System Science Co.)
- NX-48 Urine/Swab DNA Kit utilizando Nextractor® NX-48 system, (Genolution)
- ZP02004 MagPurix Tissue DNA Extraction Kit, utilizando MagPurix 12A instrument (Zinexts Life Science Corp)
- Invisorb® Spin Universal Kit (Invitex)

Preparación del control positivo

Reconstituir el contenido liofilizado del HPV Positive Control (tubo rojo) con 100 µL de agua ultrapura (PCR grade water, tubo blanco). Mezclar hasta conseguir una suspensión homogénea con ayuda del vórtex. Después del primer uso, dispensar en alícuotas para evitar repetidos ciclos de congelación-descongelación y almacenarlo a -20°C.

El control positivo contiene una gran cantidad de copias molde y el riesgo de contaminación es elevado. Por lo tanto, se recomienda abrir y manipular en un área del laboratorio separada de los otros componentes del kit y de las muestras a analizar.

Preparación de la reacción

- Preparar el número de pocillos necesarios incluyendo muestras y controles (un control positivo y uno negativo).
- Retirar el sello de aluminio que protege las tiras.
- Pipetear 15 µL de la solución de resuspensión (tubo verde) y añadirlos en cada pocillo.
- Pipetear 5 µL de DNA extraído, Control Negativo (tubo amarillo) o Control positivo reconstituido (tubo rojo) y añadirlos en los pocillos correspondientes.
- Cerrar los pocillos con los tapones suministrados. Centrifugar brevemente (opcional).
- Colocar las tiras en el equipo de PCR a tiempo real.

Programación del termociclador

Configurar el termociclador siguiendo las siguientes instrucciones:

Etapa	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95°C	2 min	1
Desnaturalización	95°C	10 seg	45
Hibridación/Elongación (Recogida de datos*)	60°C	50 seg	

Los datos de fluorescencia deben recogerse durante la etapa de hibridación (*) a través de los canales FAM (Virus del papiloma humano 16), HEX, JOE o VIC (Virus del papiloma humano 18), y Cy5 (Control Interno). En los termocicladores Applied Biosystems 7500 Fast, y Stratagene Mx3005P™ comprobar que la opción del control pasivo ROX esta desactivada (ver Adjunto II).

Análisis e interpretación de resultados

El análisis de los resultados se realiza con el software propio del equipo de PCR en tiempo real de acuerdo con las instrucciones de uso del fabricante.

Antes de analizar el resultado de las muestras clínicas debe validarse el resultado de los controles:

Control positivo

El control positivo utilizado en cada serie debe mostrar una curva de amplificación en los canales de los virus del papiloma humano 16 (FAM) y virus del papiloma humano 18 (HEX, JOE o VIC).

Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA M.N. 7440

Control negativo

El control negativo incluido en cada serie debe mostrar la ausencia de señal de FAM, y HEX, VIC o JOE.

El experimento es inválido si hay señal de amplificación en el control negativo o ausencia de señal en el control positivo para cualquier canal. El ensayo se debe de repetir.

Con la ayuda de la siguiente tabla analizar los resultados de las muestras:

HPV 16 (FAM)	HPV 18 (HEX)	Control Interno	Control Negativo	Control Positivo	Interpretación
+	+	+/-	-	+	Virus del papiloma humano 16 y Virus del papiloma humano 18 Positivos
-	-	+	-	+	Virus del papiloma humano 16 y Virus del papiloma humano 18 Negativos
+	-	+/-	-	+	Virus del papiloma humano 16 Positivo y Virus del papiloma humano 18 Negativo
-	+	+/-	-	+	Virus del papiloma humano 18 Positivo y Virus del papiloma humano 16 Negativo
+	+	+	+	+	Inválido
-	-	-	-	-	Inválido

Positivo (+): Señal de amplificación

Negativo (-): No hay señal de amplificación

Si las muestras negativas para todos los virus no muestran un resultado positivo para el control interno, se debe repetir el ensayo diluyendo la muestra original 1:10 o repetir la extracción de los ácidos nucleicos debido a posibles problemas causados por inhibidores de PCR.

Control de Calidad

Con el fin de confirmar el correcto funcionamiento de la técnica de diagnóstico molecular, se incluye un Control Interno (CI). Además, un control positivo y uno negativo se debe de incluir en cada ensayo para una correcta interpretación de los resultados.

Características técnicas

Sensibilidad y especificidad clínica

Un total de 94 muestras clínicas (32 citología líquida y 62 frotis endocervicales/vaginales) procedentes de pacientes sintomáticos fueron analizadas mediante Vitassay qPCR HPV y CLART®HPV4" Genotipado de papilomavirus humano mediante identificación genómica para diagnóstico *in vitro* (Genómica) ó "Anyplex™ II HPV28 Detection" utilizando la tecnología DPO™ y el método de análisis de curva de *melting* de la tecnología TOCE™ (Seegene).

Ambos kits detectaron la presencia del virus del papiloma humano 16 en 43 muestras y del virus del papiloma humano 18 en 5 muestras. Por tanto, se obtuvo una concordancia del 100% entre los dos kits. Además, se observó que un 36% de las muestras eran coinfecciones de HPV16 /HPV18 (20/34).

Además, Vitassay qPCR HPV se evaluó con el programa "QCMD 2017 Human Papillomavirus DNA". El panel consistió en 12 viales que contenían suspensiones celulares con diversas concentraciones y subtipos de virus del papiloma humano o muestras negativas para el patógeno buscado. Todas las muestras se detectaron correctamente confirmando la alta sensibilidad y especificidad del kit de diagnóstico molecular evaluado.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica fue determinada a partir de diluciones seriadas (1:10) de estándares del DNA molde de los diferentes patógenos (10^7 - 10^1 copias/reacción). Este ensayo tiene un límite de detección (LoD) de ≥ 10 copias de DNA viral por reacción.

Especificidad analítica

La especificidad analítica del ensayo de HPV 16 y HPV 18 fue confirmada probando un panel compuesto por los siguientes patógenos, no observándose reacciones cruzadas entre ninguna de las especies.

Pruebas de reactividad cruzada		
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Human papillomavirus 18
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Listeria innocua</i>	Human papillomavirus 6
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Human papillomavirus 11
<i>Candida krusei</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	Human papillomavirus 31
<i>Candida dubliniensis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Human papillomavirus 33
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	Human papillomavirus 39
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Human papillomavirus 40
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Human papillomavirus 42
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Serratia marcescens</i>	Human papillomavirus 44
<i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV)	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	Human papillomavirus 45
<i>Chlamydia trachomatis</i> (SW)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Human papillomavirus 51
<i>Chlamydia trachomatis</i> genovar F	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Human papillomavirus 52
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Human papillomavirus 53
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Treponema pallidum</i>	Human papillomavirus 54
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Human papillomavirus 56
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>	Human papillomavirus 58
<i>E. coli</i> O.1285;O18:H7:K1	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Human papillomavirus 59
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Cytomegalovirus AD-169	Human papillomavirus 61
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA	Hepatitis A	Human papillomavirus 66
<i>Haemophilus ducreyi</i> class 1	Herpes simplex virus 1	Human papillomavirus 68
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Herpes simplex virus 2	Human papillomavirus 70
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Human papillomavirus 16	Human papillomavirus 73
<i>Listeria ivanovii</i>		

Reactividad analítica

La reactividad de Vitassay qPCR HPV para el virus del papiloma humano 16 se evaluó frente a la cepa HPV 16, obteniéndose un resultado positivo.

La reactividad de Vitassay qPCR HPV para el virus del papiloma humano 18 se evaluó frente a la cepa HPV 18, obteniéndose un resultado positivo.

Termocicladores compatibles

Vitassay qPCR HPV ha sido validado en los siguientes equipos:

- Cobas Z480 (Roche)
- 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) ^{II}
- CFX96 TM Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- AriaMx Real-Time PCR System (Agilent Technologies)
- DTlite Real-Time PCR System (DNA-Technology)
- DTPrime Real Time Detection Thermal Cyclers (DNA-Technology)
- Rotor-Gene® Q (Qiagen)^I
- SmartCycler® (Cepheid)^I

I: Para los equipos Rotor-Gene® y SmartCycler® el producto debe ser reconstituido y trasvasado a los tubos específicos de cada uno de los equipos.

II: En el caso de utilizar el equipo Applied Biosystems 7500 Fast con tiras, se recomienda colocar el soporte adecuado para los tubos (Ref. PN 4388506).

Limitaciones

- Esta prueba proporciona un diagnóstico preliminar de infección por virus del papiloma humano 16 y virus del papiloma 18. Todos los resultados obtenidos deben ser interpretados por un especialista junto con la información clínica y los hallazgos de laboratorio disponibles.
- Este ensayo ha sido probado en muestras de citologías líquidas y frotis endocervicales y vaginales. El uso de otro tipo de muestras no se ha establecido.
- El correcto funcionamiento de la prueba depende de la calidad de la muestra; el DNA deber ser extraído de forma adecuada de las muestras clínicas humanas. Una forma inadecuada de recolección, almacenaje y/o transporte de las muestras puede dar lugar a falsos negativos.
- Se puede detectar un bajo número de copias del DNA molde diana por debajo del límite de detección, pero los resultados pueden no ser reproducibles.
- Existe la posibilidad de falsos positivos debido a la contaminación cruzada con los diferentes patógenos, ya sea por muestras que contienen altas concentraciones de DNA molde diana o por contaminación por arrastre a partir de productos de PCR de reacciones anteriores.



Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA M.N. 7440

Adjunto I. Compatibilidad de los termocicladores a tiempo real más usuales

Los termocicladores más usuales se enumeran en la siguiente tabla separados por tipo de tubo. Si no encuentra su termociclador, póngase en contacto con su proveedor:

Termocicladores con bloque de bajo perfil	Termocicladores con bloque de alto perfil
Agilent Technologies	Abbott
AriaMx Real-Time PCR System	Abbott m2000 Real-Time System
Applied Biosystems	Applied Biosystems
7500 Fast Real-Time PCR System	7300 Real-Time PCR System
7500 Fast Dx Real-Time PCR System	7500 Real-Time PCR System
QuantStudio™ 12K Flex 96-well Fast	7900 HT Real-Time PCR System
QuantStudio™ 6 Flex 96-well Fast	ABI PRISM 7000
QuantStudio™ 7 Flex 96-well Fast	ABI PRISM 7700
QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System	QuantStudio™ 12K Flex 96-well
QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System	QuantStudio™ 6 Flex 96-well
StepOne Plus™ Real-Time PCR System	QuantStudio™ 7 Flex 96-well
StepOne™ Real-Time PCR System	QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System
ViiA™ 7 Fast Real-Time PCR System	QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System
BIONEER	ViiA™ 7 Real-Time PCR System
Exicycler™ 96	Analytik Jena Biometra
Bio-Rad	TOptical
CFX96™ Real-Time PCR Detection System	qTOWER 2.0
Mini Opticon™ Real-Time PCR Detection System	BIONEER
Cepheid	Exicycler™ 96
SmartCycler®	Bio-Rad
Qiagen	CFX96™ Deep Well Real-Time PCR
Rotor-Gene® Q	iCycler IQ™ Real-Time PCR
Roche	iCycler IQ™ 5 Real-Time PCR
LightCycler @480 Real-Time PCR System	MyiQ™ Real-Time PCR Detection System
LightCycler @96 Real-Time PCR System	MyiQ™ 2 Real-Time PCR Detection System
Cobas z480 Analyzer	Cepheid
	SmartCycler®
	DNA-Technology
	DTlite Real-Time PCR System *
	DTprime Real-time Detection Thermal Cyclers *
	Eppendorf
	Mastercycler™ ep realplex
	Qiagen
	Rotor-Gene® Q
	Stratagene/ Agilent Technologies
	Mx3000P™ Real Time PCR System
	Mx3005P™ Real Time PCR System

* Ver Adjunto III para configurar los valores de exposición

Adjunto II. Canales de detección de los equipos a tiempo real más comunes

Los canales de fluorescencia de algunos de los termocicladores a tiempo real más comunes se especifican en la siguiente tabla:

Termociclador	Canal Vitassay	Canal de Detección	Observaciones
Bio-Rad CFX96™	FAM	FAM	
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Applied Biosystems ABI 7500	FAM	FAM	Opción del control pasivo ROX desactivada
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Roche Lightcycler®480II	FAM	465/510	Se requiere compensación de color
	HEX	533/580	
	ROX	533/610	
	Cy5	618/660	
Cepheid Smartcycler®	FAM	Channel 1	
	HEX	Channel 2	
	ROX	Channel 3	
	Cy5	Channel 4	
Abbott m2000rt	FAM	FAM	
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Stratagene Mx3000P™ Mx3005P™	FAM	FAM	Opción del control pasivo ROX desactivada
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Agilent Technologies AriaMx	FAM	FAM	
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene® Q	FAM	Green	Al configurar los canales, presione el botón "Gain Optimisation" y después vaya a "Optimise Acquiring". La fluorescencia del apartado Target Sample Range tiene que estar entre 5 y 10 FI para cada canal. Además, marque la opción "Perform Optimisation Before 1st Acquisition".
	HEX	Yellow	
	ROX	Orange	
	Cy5	Red	
BIONEER Exicycler™ 96	FAM	FAM	
	HEX	JOE	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	

Adjunto III. Configuración de los valores de exposición

Los valores de exposición de algunos termocicladores se deben ajustar para su correcto funcionamiento. Establecer los valores de exposición de la siguiente manera:

Termociclador	Canal Vitassay	Valor de exposición
DTlite Real-Time PCR System (DNA-Technology)	FAM	500
	HEX	500
	ROX	500
	Cy5	500
DTprime Real-time Detection Thermal Cycler (DNA-Technology)	FAM	500
	HEX	1000
	ROX	1000
	Cy5	1000

Vitassay

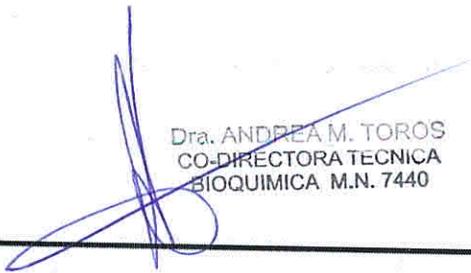
Real-Time PCR Kits

Vitassay qPCR High-Risk HPVs

PCR en tiempo real para la detección cualitativa simultánea de 14 virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo en muestras clínicas.

Real-time PCR kit for the simultaneous qualitative detection of 14 high risk Human papillomavirus (HPV) in clinical samples.

CE IVD


Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TÉCNICA
BIOQUÍMICA M.N. 7440

ES EN



Uso previsto

Vitassay qPCR High-Risk HPVs permite la detección cualitativa simultánea de DNA genómico específico para 14 virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68), y la identificación de los dos genotipos principales, VPH 16 y VPH 18, en muestras cervicales (en solución de base líquida para citología), procedentes de pacientes con sospecha de infección por VPH de alto riesgo. Este producto está destinado para facilitar el diagnóstico de infecciones causadas por VPH de alto riesgo, así como la identificación de los VPH tipo 16 y 18, junto con los datos clínicos del paciente y los resultados de otras pruebas de laboratorio.

Referencias

Vitassay qPCR High-Risk HPVs 8x8-well strip, low profile	7041063
Vitassay qPCR High-Risk HPVs 8x8-well strip, high profile	7042063

Reactivos suministrados

Para las referencias 7041063 y 7042063:

Código	Reactivo/Material	Color	Cantidad
7041S063A/ 7042S063A	High-Risk HPVs 1 strips low/high profile	-	4 tiras de 8 pocillos
7041S063B/ 7042S063B	High-Risk HPVs 2 strips low/high profile	-	4 tiras de 8 pocillos
7C063	High-Risk HPVs Positive Control	rojo	1 vial
7001A	PCR grade water	blanco	1 vial x 1 mL
7002B	Resuspension buffer	verde	1 vial x 1,8 mL
7003N	Negative control	amarillo	1 vial x 1 mL
7004O	Tapas ópticas	-	8 tiras de 8 tapones

Material y equipamiento necesario, no proporcionado

- Sistema de recolección y transporte.
- Congeladores de laboratorio (- 30°C a - 10°C y/o ≤ -70°C).
- Kit de extracción de DNA
- Equipo de PCR a tiempo real (ver Adjunto I)
- Centrífuga para tubos de 1,5 mL
- Vórtex
- Micropipetas (1-20 µL, 20-200 µL)
- Puntas con filtro
- Guantes desechables sin polvo

Condiciones de Transporte y conservación

- El transporte y almacenaje de los kits puede realizarse de 2-40°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- El control positivo resuspendido debe ser almacenado a -20°C. Para evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, se recomienda distribuir en alícuotas.
- Conservar los reactivos en oscuridad.

Resumen

El Virus del Papiloma Humano (VPH) es un virus de DNA de doble cadena que pertenece a la familia *Papovaviridae*. Se han identificado casi 200 VPH, con más de 40 tipos que colonizan el tracto genital. Todos los tipos de infección por VPH se dividen en

dos grupos en función de sus propiedades carcinógenas: de alto riesgo y de bajo riesgo. Los tipos de alto riesgo son el 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 68 y 59. Otros se clasifican como de alto riesgo potencial (que son el 53, 66, 70, 73 y 82). En la actualidad, los genotipos de alto riesgo más virulentos son el VPH16 y el VPH18 y causan alrededor del 70% de todos los cánceres cervicales invasivos del mundo.

Los 200 genotipos del VPH se han agrupado en diferentes géneros (Alfa-, Nu-/Mu-, Beta- y Gamma-papilomavirus) según la estructura del genoma viral y el tropismo hacia los tejidos epiteliales humanos. El género Alfa incluye genotipos que se han descrito como causantes de cáncer, mientras que la infección por los papilomavirus Beta y Gamma es generalmente asintomática, pero los estados de inmunosupresión pueden desencadenar que estos tipos produzcan papilomas cutáneos o aumenten la predisposición al cáncer de piel.

La mayoría de las infecciones anogenitales por VPH se adquieren por contacto sexual, y su adquisición está fuertemente determinada por tener varias parejas sexuales y su respectivo comportamiento sexual.

El VPH ha sido identificado como la causa de aproximadamente el 5% de todos los cánceres del mundo. El VPH es el segundo cáncer más frecuente en las mujeres, siendo muy común en las de alrededor de 20-25 años. La infección por VPH está asociada a prácticamente todos los cánceres de cuello uterino y a una proporción significativa de cánceres anogenitales (vulvar, vaginal, de pene y anal) y orofaríngeos. La infección por VPH también se asocia a otras lesiones de la piel y las mucosas, como las verrugas y los papilomas benignos.

Para prevenir las enfermedades relacionadas con el VPH, se han desarrollado vacunas. La vacunación antes de la exposición al VPH (antes del primer contacto sexual) permite una protección superior al 90%, mientras que la vacunación después de la exposición al VPH sólo protege alrededor del 50-60%; por lo tanto, el momento ideal para conseguir una mayor protección contra dichas enfermedades es una vacunación temprana. Hay algunos estudios donde sugieren que la vacunación de las niñas de 12 años es la mejor solución contra el cáncer de cuello de útero.

En la clasificación de los serotipos del papiloma viral más oncogénicos, en el primer y segundo lugar se encuentran el 16 y el 18, respectivamente, y son responsables del cáncer de cuello uterino, vulva, vagina, pene, ano y orofaríngeo. En el tercer lugar están los serotipos 6 y 11, que se asocian a un menor riesgo oncológico de la vagina y el pene, pero son los cuartos en el cáncer de vulva y los quintos en el cáncer de ano. Actualmente se utilizan varias vacunas contra los diferentes serotipos del VPH: Una vacuna bivalente que contiene los serotipos 16 y 18, una vacuna tetravalente que contiene los serotipos 16, 18, 6 y 11 y una vacuna 9-valente que contiene 16, 18, 6, 11, 31, 33, 45, 52 y 58.

Principio de la prueba

Vitassay qPCR High-Risk HPVs se basa en la amplificación a tiempo real de una región conservada del gen *L2* (VPH16), *L1* (VPH18), *E6* (VPH 35, 56 y 58) y *E7* (VPH 31, 33, 39, 45, 51, 52, 59, 66 and 68). Tras la extracción de los ácidos nucleicos, la presencia de los patógenos se detecta mediante un aumento de la fluorescencia observada durante la reacción, tras la hidrólisis de la sonda fluorescente.

El ensayo está basado en la actividad 5' exonucleasa que utiliza dos *primers* y una sonda de hidrólisis fluorogénica para detectar la acumulación de la secuencia diana amplificada durante la reacción de PCR. Cuando la polimerasa comienza a extender los *primers*, la sonda es hidrolizada mediante su actividad exonucleasa 5'-3' produciendo la separación espacial del fluoróforo y el *quencher*. El aumento de la señal fluorescente resultante es proporcional a la cantidad de producto amplificado en la muestra y es detectado mediante un equipo de PCR en tiempo real.

Vitassay qPCR High-Risk HPVs, se trata de una prueba lista para usar que contiene en cada pocillo todos los reactivos necesarios en formato estabilizado para llevar a cabo la PCR a tiempo real. Además, un control interno permite la detección de una posible reacción de inhibición. Cada kit incluye dos tipos de tiras y cada una de ellas corresponde a un ensayo diferente. La primera tira contiene la mezcla de reacción multiplex para la detección de VPH16, VPH18 y/o VPH 35, 58 y 66, así como el Control Interno (CI). La segunda tira contiene la mezcla de reacción multiplex para la detección de VPH 31, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 59 y/o 68.

Los canales de detección de las secuencias diana se describen a continuación:

Tira	Diana	Canal detección
High-Risk HPVs 1	VPH 16	FAM
	VPH 35, 58 y/o 66	Cy5
	VPH 18	HEX, VIC o JOE (según el equipo utilizado)
	Control Interno (CI)	ROX

Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TÉCNICA
BIOQUÍMICA M.N. 7440

Tira	Diana	Canal detección
High-Risk HPVs 2	VPH 52, 59 y/o 68	HEX, VIC o JOE (según el equipo utilizado)
	VPH 31, 39 y/o 56	ROX
	VPH 33, 45 y/o 51	FAM

Precauciones

- Diseñado para uso profesional de diagnóstico *in vitro* (uso por personal de laboratorio clínico cualificado y capacitado).
- No utilizar el kit después de la fecha de caducidad.
- No mezclar reactivos de otros kits y/o diferentes lotes.
- No utilizar si el kit tiene signos de haber sido abierto o manipulado.
- No utilizar el kit si el material desecante de los diferentes sobres de aluminio está dañado o no está o si el aluminio protector está roto o dañado.
- No retirar el material desecante de los sobres de aluminio una vez abiertos.
- Se recomienda proteger los tubos de la humedad ya que una exposición prolongada puede afectar al rendimiento del producto.
- Trabajar siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio. Use ropa protectora, guantes desechables, gafas y mascarilla.
- No comer, beber o fumar en la zona de trabajo.
- Es importante seguir un flujo de trabajo en el laboratorio unidireccional: Área de Extracción, Área de Amplificación y Detección. No retornar muestras, equipos ni reactivos a un área anterior. Utilice áreas separadas para la preparación de muestras de pacientes y controles.
- Evite la contaminación con ribonucleasas (RNasa)/ desoxirribonucleasas (DNasa) o microbiológica de los reactivos. Se recomienda el uso de puntas de pipeta estériles desechables resistentes a los aerosoles o de desplazamiento positivo de RNasa/DNasa.
- Un aspecto de la mezcla de reacción en formato estabilizado, que normalmente se encuentra en el fondo del tubo, diferente al habitual (sin forma cónica, no homogénea, de menor/mayor tamaño y/o color diferente al blanquecino) no altera la funcionalidad de la prueba.
- Las muestras y todo material en contacto con ellas se deben tratar como potencialmente infecciosos y se deben gestionar según la legislación nacional sobre residuos sanitarios y la legislación nacional de seguridad. Tome las precauciones necesarias durante la recogida, transporte, almacenamiento, tratamiento y eliminación de muestras.
- Use equipos de protección individual (EPI) y cabina de seguridad biológica para el manejo de muestras potencialmente infecciosas y reactivos según recomendaciones actuales.
- Se recomienda la descontaminación periódica de los equipos usados habitualmente, especialmente micropipetas, y de las superficies de trabajo.
- Asegurarse de utilizar un pocillo para la determinación de VPH 16, 18, 35, 58 y 66, y otro pocillo para la determinación de VPH 31, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 59 and 68. Preste atención para no mezclarlos durante todo el proceso.

Procedimiento

Toma, transporte y conservación de muestras

Para la recogida, la conservación y el transporte de los especímenes deben seguirse las condiciones validadas por el usuario. Vitassay qPCR High-Risk HPVs ha sido testado en muestras cervicales (exocervicales y endocervicales) recogidas con hisopos endocervicales en solución PreservCyt®, empleando el sistema y los viales ThinPrep® (HOLOGIC®). Otros tipos de muestras deben ser validados por el usuario.

En general, las muestras se deben recoger y etiquetar adecuadamente en contenedores limpios, y ser procesadas a la mayor brevedad posible para garantizar la calidad de la prueba. Se recomienda utilizar muestras frescas para el ensayo. El transporte debe realizarse siempre conforme a la normativa local y nacional para el transporte de muestras biológicas. Las muestras recogidas en solución PreservCyt® deben transportarse a 15-30°C durante un máximo de 6 semanas. Para un transporte de tiempo prolongado (más de 6 semanas), se recomienda el envío a 2-8°C, o a -20°C o menos si el medio de conservación lo permite. Las muestras pueden conservarse a 2-8°C o pueden congelarse a -20°C o a -80°C si el medio de conservación lo permite. Los ciclos de congelación-descongelación deben ser evitados para prevenir la degradación de la muestra y los ácidos nucleicos.

Las muestras clínicas deben recolectarse, transportarse y almacenarse de acuerdo con pautas de laboratorio adecuadas. Para más información puede consultar las siguientes guías:

- Miller JM, et al. (2018). A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. Clin Infect Dis. Aug 31;67(6):e1-e94.

Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TÉCNICA
BIOQUÍMICA M.N. 7440

- García-Lechuz Moya JM, et al. (2017). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC).

Extracción de DNA

Para el aislamiento de los ácidos nucleicos se puede utilizar un sistema manual o automático compatible con ensayos de PCR en tiempo real. Realizar el pretratamiento de la muestra siguiendo las instrucciones del kit de extracción utilizado. Los siguientes kits de extracción han sido validados:

MagDEA Dx SV Kit, utilizando el instrumento magLEAD® 12gC (Precision System Science Co.).

MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit, utilizando el equipo KingFisher™ Flex (Thermo Fisher Scientific).

Maxwell® RSC 16 Viral Total Nucleic Acid Purification Kit, utilizando el instrumento Maxwell® 16 (Promega).

Preparación del control positivo

Reconstituir el contenido liofilizado del High-Risk HPVs Positive Control (tubo rojo) con 200 µL de agua ultrapura (PCR grade water, tubo blanco). Mezclar hasta conseguir una suspensión homogénea con ayuda del vórtex. Después del primer uso, dispensar en alícuotas para evitar repetidos ciclos de congelación-descongelación y almacenarlo a -20°C.

El control positivo contiene una gran cantidad de copias molde y el riesgo de contaminación es elevado. Por lo tanto, se recomienda abrir y manipular en un área del laboratorio separada de los otros componentes del kit y de las muestras a analizar.

Preparación de la reacción

- Preparar el número de pocillos necesarios incluyendo muestras y controles (un control positivo y uno negativo para cada uno de los ensayos).
- Retirar el sello de aluminio que protege las tiras.
- Pipetear 15 µL de la solución de resuspensión (tubo verde) y añadirlos en cada pocillo.
- Pipetear 5 µL de DNA extraído, Control Negativo (tubo amarillo) o Control positivo (tubo rojo) y añadirlos en los pocillos correspondientes.
- Cerrar los pocillos con los tapones suministrados. Centrifugar brevemente (opcional).
- Colocar las tiras en el equipo de PCR a tiempo real.

Programación del termociclador

Configurar el termociclador siguiendo las siguientes instrucciones:

Etapa	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Activación de la polimerasa	95°C	2 min	1
Desnaturalización	95°C	10 seg	45
Hibridación/Elongación (Recogida de datos*)	60°C	50 seg	

Los datos de fluorescencia se deben recoger durante la etapa de hibridación (*) a través de los canales FAM (VPH 16 y otros (VPH 33, 45 y/o 51)), ROX (Control Interno (CI) y otros (VPH 31, 39 y/o 56)), HEX, JOE o VIC (VPH 18 y otros (VPH 52, 59 y/o 68)), y Cy5 (otros (VPH 35, 58 y/o 66)). En los termocicladores Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System, Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System y Stratagene Mx3005P™ Real Time PCR System comprobar que la opción del control pasivo ROX está desactivada (ver Adjunto II).

Análisis e interpretación de resultados

El análisis de los resultados se realiza con el software propio del equipo de PCR en tiempo real de acuerdo con las instrucciones de uso del fabricante. Para verificar el correcto funcionamiento de la mezcla de amplificación compruebe la emisión de señal de control interno (CI).

Antes de analizar el resultado de las muestras clínicas debe validarse el resultado de los controles:

Control positivo

El control positivo utilizado en cada serie debe mostrar una curva de amplificación ($C_t \leq 40$) en los canales FAM, ROX, HEX y Cy5.

Control negativo

El control negativo incluido en cada serie debe mostrar la ausencia de señal (Ct \geq 40 o no señal) de FAM, ROX, HEX y Cy5.

El experimento es inválido si hay señal de amplificación en el control negativo o ausencia de señal en el control positivo para cualquier canal. El ensayo se debe de repetir.

El Control Interno (CI) debería mostrar una señal de amplificación (Ct \leq 40) en los pocillos del control positivo y control negativo.

Una vez validado el resultado de los controles, con la ayuda de la siguiente tabla analizar los resultados de las muestras:

High-Risk HPV's 1			High-Risk HPV's 2				Interpretación
VPH 16 (FAM)	VPH 18 (HEX)	Control Interno (ROX)	Otros (VPH 35/58/66) (Cy5)	Otros (VPH 33/45/51) (FAM)	Otros (VPH 52/59/68) (HEX)	Otros (VPH 31/39/56) (ROX)	
+	-	+/- ¹	-	-	-	-	DNA VPH 16 detectado
-	+	+/- ¹	-	-	-	-	DNA VPH 18 detectado
-	-	+/- ¹	Señal de amplificación en uno o más canales: +				Detección DNA de otros VPH AR diferentes de VPH 16 y VPH 18
+	+	+/- ¹	-	-	-	-	DNA VPH 16 y VPH 18 detectados
+	-	+/- ¹	Señal de amplificación en uno o más canales: +				Detección DNA VPH 16 y otros VPH AR
-	+	+/- ¹	Señal de amplificación en uno o más canales: +				Detección DNA VPH 18 y otros VPH AR
+	+	+/- ¹	Señal de amplificación en uno o más canales: +				Detección DNA VPH 16, VPH 18 y otros VPH AR
-	-	+ ²	-	-	-	-	DNA molde diana no Detectado ²
-	-	- ²	-	-	-	-	Test fallido ²

Positivo (+): Señal de amplificación (Ct \leq 40)

Negativo (-): No hay señal de amplificación (Ct \geq 40 o no señal)

¹ En ocasiones, la detección del control interno no es necesaria, ya que la presencia de un alto número inicial de copias del ácido nucleico diana puede causar una amplificación preferencial de esta última. El control interno (CI) muestra o no una señal de amplificación (Ct \leq 40 o no señal).

² En el caso de que la detección de las regiones diana de VPH resulte negativa, el CI debe mostrar una señal de amplificación con Ct menor de 35. En el caso de ausencia de señal o valor de Ct \geq 35 del control interno, el resultado se considera "inválido" y se requiere repetir el ensayo. Se recomienda repetir la qPCR diluyendo la muestra de DNA 1:10 y/o 1:100, o repetir la extracción y el ensayo para verificar si hay un posible fallo en el procedimiento de extracción y/o problemas de inhibición.

Si el resultado obtenido resulta confuso o dudoso, es necesario comprobar que se han realizado correctamente todos los pasos, verificar el correcto rendimiento de cada etapa de la qPCR, revisar todos los parámetros, la forma sigmoidea de la curva y la intensidad de fluorescencia.

Los resultados de la prueba deben ser evaluados por un profesional de la salud, juntamente con el historial médico, los síntomas clínicos y/o los resultados obtenidos en otras pruebas de diagnóstico.

Control de Calidad

Con el fin de confirmar el correcto funcionamiento de la técnica de diagnóstico molecular, se incluye un Control Interno (CI) en cada reacción. Además, un control positivo y uno negativo se debe de incluir en cada ensayo para una correcta interpretación de los resultados.

Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA M.N. 7440

Características técnicas

Sensibilidad y especificidad clínica

En un estudio se analizaron 626 muestras exocervicales y endocervicales recogidas con hisopos endocervicales en solución PreservCyt®, utilizando los viales ThinPrep® para el sistema ThinPrep® (HOLOGIC®), con Vitassay qPCR High-Risk HPVs kit.

La extracción se realizó con MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit empleando el equipo de extracción automática KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific) y también con el Maxwell® RSC 16 Viral Total Nucleic Acid Purification Kit empleando el equipo Maxwell® RSC 16 Instrument (Promega), CFX96™ Real-Time PCR instrument (Bio-Rad), 7500 Fast y 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems).

Los resultados obtenidos con Vitassay qPCR High-Risk HPVs fueron comparados con los obtenidos con otros dos kits, el Cobas® HPV Test (Roche) y el Anyplex™ II HPV HR (Seegene), y se muestran en las siguientes tablas.

Diana	TP	TN	FP	FN	SE	SP	PPV	NPV
VPH 16	64	562	0	0	1 (0.94 – 1)	1 (0.99 – 1)	1 (0.94 – 1)	1 (0.99 – 1)
VPH 18 y VPH 45	35	591	0	0	1 (0.90 – 1)	1 (0.99 – 1)	1 (0.90 – 1)	1 (0.99 – 1)
Otros VPH alto riesgo	190	435	0	1	0.99 (0.97 – 1)	1 (0.99 – 1)	0.99 (0.97-0.99)	1 (0.99-1)

Cobas® HPV Test (Roche) se utilizó como kit comparador. TP = Verdaderos Positivos, TN = Verdaderos Negativos, FP = Falsos Positivos, FN = Falsos Negativos, SE = Sensibilidad, SP = Especificidad, PPV = Valor Predictivo Positivo, NPV = Valor Predictivo Negativo.

Diana	TP	TN	FP	FN	SE	SP	PPV	NPV
VPH 16	64	561	0	1	0.98 (0.91 – 1)	1 (0.99 – 1)	0.98 (0.91 – 0.99)	1 (0.99 – 1)
VPH 18	18	608	0	0	1 (0.81 – 1)	1 (0.99 – 1)	1 (0.82-1)	1 (0.99 – 1)
VPH 45	18	608	0	0	1 (0.81 – 1)	1 (0.99 – 1)	1 (0.82-1)	1 (0.99 – 1)
VPH 35	25	598	2	1	0.96 (0.80 – 0.99)	0.99 (0.98 – 1)	0.96 (0.81 – 0.99)	0.99 (0.98 – 0.99)
VPH 58	31	593	2	0	1 (0.88 – 1)	0.99 (0.98 – 1)	1 (0.89 – 1)	0.99 (0.98 – 0.99)
VPH 66	15	609	2	0	1 (0.78 – 1)	0.99 (0.98 – 1)	1 (0.79 – 1)	0.99 (0.98 – 0.99)
VPH 33	20	605	1	0	1 (0.83 – 1)	0.99 (0.99 – 1)	1 (0.83 – 1)	0.99 (0.99 – 1)
VPH 51	18	607	1	0	1 (0.81 – 1)	0.99 (0.99 – 1)	1 (0.82 – 1)	0.99 (0.99 – 1)
VPH 52	26	599	1	0	1 (0.86 – 1)	0.99 (0.99 – 1)	1 (0.87 – 1)	0.99 (0.99 – 1)
VPH 59	25	600	1	0	1 (0.86 – 1)	0.99 (0.99 – 1)	1 (0.86 – 1)	0.99 (0.99-1)
VPH 68	12	612	1	1	0.92 (0.64 – 0.99)	0.99 (0.99 – 1)	0.92 (0.66 – 0.98)	0.99 (0.99 – 1)
VPH 31	35	586	4	1	0.97 (0.85 – 0.99)	0.99 (0.98 – 0.99)	0.97 (0.85 – 0.99)	0.99 (0.98 – 0.99)
VPH 39	21	601	4	0	1 (0.83 – 1)	0.99 (0.98 – 0.99)	1 (0.84 – 1)	0.99 (0.98 – 0.99)
VPH 56	21	600	4	1	0.95 (0.77 – 0.99)	0.99 (0.98 – 0.99)	0.95 (0.78 – 0.99)	0.99 (0.98 – 0.99)

Anyplex™ II HPV HR (Seegene) se utilizó como kit comparador. TP = Verdaderos Positivos, TN = Verdaderos Negativos, FP = Falsos Positivos, FN = Falsos Negativos, SE = Sensibilidad, SP = Especificidad, PPV = Valor Predictivo Positivo, NPV = Valor Predictivo Negativo.

En conclusión, los resultados muestran una alta concordancia para detectar estos patógenos utilizando Vitassay qPCR High-Risk HPVs.

Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA M.N. 7440



Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica fue determinada a partir de diluciones seriadas (1:10) de estándares de los diferentes patógenos (107-101 copias/reacción). Este ensayo tiene un límite de detección de 10 copias de DNA por reacción para VPH 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59 y 68; y de 50 copias de DNA por reacción para VPH 16, 18, 58 y 66.

Especificidad analítica

La especificidad analítica para la detección de papilomavirus de alto riesgo fue confirmada probando un panel compuesto por los siguientes microorganismos, no observándose reacciones cruzadas entre ninguna de las especies:

Pruebas de reactividad cruzada			
<i>Ureaplasma parvum</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-	<i>Enterococcus faecium</i> serotipo 11	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>Escherichia coli</i> cepa 0.1285; O18:H7:K1	-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Gardnerella vaginalis</i>	-
<i>Candida dubliniensis</i>	-	<i>Haemophilus ducreyi</i> cepa Class 1	-
<i>Candida glabrata</i>	-	<i>Haemophilus influenzae</i> cepa Minn A	-
<i>Candida krusei</i> (<i>Issatchenkia orientalis</i>)	-	Virus Hepatitis A	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	Virus Herpes Simplex 1 cepa Macintyre	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	Virus Herpes Simplex 2 cepa MS	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> cepa Swedish	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> genovar F	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>Pneumoniae</i> serotipo Capsular 2	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV)	-	<i>Listeria innocua</i> serotipo 6a	-
Cytomegalovirus cepa AD-169	-	<i>Listeria ivanovii</i> subsp. <i>ivanovii</i> serovar 5	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> serotipo Cloaca B	-	<i>Listeria monocytogenes</i> serovar 4b	-
<i>Enterobacter cloacae</i> serotipo Cloaca A	-	<i>Mycoplasma genitalium</i>	-
		<i>Mycoplasma hominis</i>	-
		<i>Neisseria gonorrhoeae</i> cepa 49226	-
		<i>Neisseria gonorrhoeae</i> cepa Lvl Ng PorA	-
		<i>Neisseria meningitidis</i> serogrupo A	-
		<i>Proteus mirabilis</i>	-
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
		<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	-
		<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	-
		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-
		<i>Streptococcus agalactiae</i> cepa Z019	-
		<i>Streptococcus pneumoniae</i> cepa Z022	-
		<i>Treponema pallidum</i>	-
		<i>Trichomonas vaginalis</i>	-
		<i>Acinetobacter baumannii</i>	-
		<i>Aspergillus fumigatus</i>	-

Reactividad analítica

La reactividad de Vitassay qPCR High-Risk HPVs se evaluó frente a DNA sintético y específico, y frente a DNA extraído de muestras clínicas y muestras clínicas simuladas procedentes de paneles EQAs, positivas para VPH de alto riesgo (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68), mostrando resultados positivos.

Termocicladores compatibles

Vitassay qPCR High-Risk HPVs ha sido validado en los siguientes equipos:

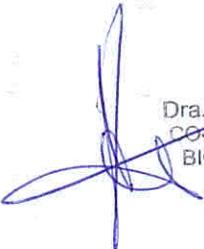
- Cobas z480 Analyzer (Roche)
- 7500 Fast and 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) ¹
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- AriaMx Real-Time PCR System (Agilent Technologies)
- DTPPrime Real Time Detection Thermal Cycler (DNA-Technology)
- DTLite Real-Time PCR System (DNA-Technology)

¹ En el caso de utilizar el equipo Applied Biosystems 7500 Fast con tiras, se recomienda colocar el soporte adecuado para los tubos (Ref. PN 4388506).

Dra. ANDREA M. TOROS
CO-DIRECTORA TÉCNICA
BIOQUÍMICA M.N. 7440

Limitaciones

- Todos los resultados obtenidos deben ser interpretados por un especialista junto con la información clínica y los hallazgos de laboratorio disponibles.
- Este ensayo ha sido validado con DNA extraído de muestras cervicales (exocervicales y endocervicales) recogidas con hisopos endocervicales en solución PreservCyt®, utilizando los viales ThinPrep® para el sistema ThinPrep® (HOLOGIC®). El uso de otras muestras no se ha establecido.
- El correcto funcionamiento de la prueba depende de la calidad de la muestra; el DNA debe ser extraído de forma adecuada de las muestras clínicas.
- Esta prueba no proporciona valores cuantitativos ni indica el número de organismos presentes. Esta prueba es un ensayo cualitativo.
- Se puede detectar un bajo número de copias del DNA molde diana por debajo del límite de detección, pero los resultados pueden no ser reproducibles.
- Existe la posibilidad de resultados falsos positivos debido a la contaminación cruzada, ya sea por el High-Risk HPVs positive control durante su reconstitución, por muestras que contienen altas concentraciones de DNA molde diana o por contaminación por arrastre a partir de productos de PCR de reacciones anteriores.
- La detección puede verse afectada por varios factores y sus combinaciones que pueden conducir a resultados falsos negativos, que incluyen: a) inadecuado muestreo, envío, almacenamiento y manipulación de las muestras; b) errores de procedimiento (incluido la extracción de DNA); c) Degradación del DNA durante el envío, almacenamiento y/o preparación de muestras; d) la carga de este patógeno esté por debajo del límite de detección del ensayo; e) presencia de inhibidores de la amplificación en tiempo real u otros tipos de interferencia (no se realizó un estudio de interferencia que evaluara el efecto de vacunas, terapias antivirales, antibióticos, cremas antifúngicas, quimioterapéuticos o fármacos inmunosupresores utilizados para prevenir la infección o durante el tratamiento de la misma); f) incumplimiento de las instrucciones y procedimientos sugeridos por el fabricante.
- La detección del DNA viral puede no indicar la presencia de virus viables y/o infecciosos o que el VPH sea el agente causante de los síntomas clínicos.
- Los resultados negativos no impiden la infección por VPH de alto riesgo y no deben ser la única base de una decisión de tratamiento/manejo del paciente. Aún no se han establecido los tipos de muestras óptimos y/o la etapa de infección más adecuados para su recolección. Considere la recolección de múltiples muestras del mismo paciente en diferentes momentos, lo que puede aumentar la probabilidad de detectar el virus.
- Si los datos clínicos del paciente, las pruebas de laboratorio y los estudios epidemiológicos sugieren una posible infección con VPH de alto riesgo, y se han descartado otras enfermedades de transmisión sexual, la posibilidad de un resultado falso negativo no se debería descartar y se deberían realizar pruebas adicionales.
- Los valores de fluorescencia pueden variar debido a múltiples factores como el equipo de PCR, el sistema de extracción, el tipo de muestra y su tratamiento previo, entre otros.
- El análisis bioinformático mostró que los *primers* y sondas seleccionadas son específicos para sus dianas establecidas (VPH tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 59, 56, 58, 66 y 68) y que los *primers* y la sonda que detectan VPH 39 podrían detectar el VPH 68 debido a sus similitudes genéticas.
- El uso previsto de Vitassay qPCR High-Risk HPVs es la detección de VPH de alto riesgo en muestras clínicas, llevándose a cabo dicha detección en grupos de tres genotipos por canal. Además, para VPH 16 y VPH 18 es posible su identificación. Este kit no está indicado para la evaluación de un posible abuso sexual.
- La prevalencia de la infección por VPH en una población puede afectar al procedimiento. Los valores predictivos positivos disminuyen cuando se evalúa una población con prevalencia baja, o a individuos sin riesgo de infección.
- La infección por VPH de alto riesgo no es un indicador definitivo de la presencia de enfermedad de cuello uterino de alto grado, ni tampoco implica que en todos los casos vaya a desarrollarse ni dicha enfermedad, ni cáncer de cuello de útero.
- Vitassay qPCR High-Risk HPVs detecta VPH de alto riesgo, en consecuencia, otros VPH de bajo riesgo no detectados mediante este ensayo pueden estar presentes en la muestra.


 Dra. ANDREA M. TOROS
 CO-DIRECTORA TECNICA
 BIOQUIMICA M.N. 7440

Adjunto I. Compatibilidad de los termocicladores a tiempo real más usuales

Los termocicladores más usuales se enumeran en la siguiente tabla orientativa separados por tipo de tubo. Consulte la tabla, pero se recomienda que verifique el equipo y sus especificaciones antes de ejecutar el ensayo. Si no encuentra su termociclador, póngase en contacto con su proveedor:

Termocicladores con bloque de bajo perfil	Termocicladores con bloque de alto perfil
Agilent Technologies	Abbott
AriaMx Real-Time PCR System	Abbott m2000 ⁽¹⁾
AriaDx Real-Time PCR System	Agilent Technologies
Applied Biosystems	Mx3000P™ Real Time PCR System
7500 Fast Real-Time PCR System ⁽¹⁾⁽²⁾	Mx3005P™ Real Time PCR System
7500 Fast Dx Real-Time PCR System ⁽¹⁾⁽²⁾	Applied Biosystems
QuantStudio™ 12K Flex 96-well Fast	7300 Real-Time PCR System ⁽¹⁾⁽⁴⁾
QuantStudio™ 6 Flex 96-well Fast	7500 Real-Time PCR System ⁽¹⁾
QuantStudio™ 7 Flex 96-well Fast	7900 HT Real-Time PCR System ⁽³⁾
QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System	ABI PRISM 7000 ⁽³⁾
QuantStudio™ 5 Fast Real-Time PCR System	ABI PRISM 7700 ⁽³⁾
QuantStudio™ 3 Fast Real-Time PCR System	QuantStudio™ 12K Flex 96-well
StepOne Plus™ Real-Time PCR System ⁽³⁾	QuantStudio™ 6 Flex 96-well
StepOne™ Real-Time PCR System ⁽³⁾⁽⁴⁾	QuantStudio™ 7 Flex 96-well
ViiA™ 7 Fast Real-Time PCR System	QuantStudio™ 5 Fast Real-Time PCR System
Azure Biosystems	QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System
Azure Cielo 3 ⁽⁵⁾	QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System
Azure Cielo 6	ViiA™ 7 Real-Time PCR System
BIONEER	Analytik Jena
Exicycler™ 96 Fast	qTOWER ⁽⁶⁾
Bio-Rad	BIONEER
CFX96™ Real-Time PCR Detection System	Exicycler™ 96
CFX96™ IVD Real-Time PCR Detection System	BIOER
Mini Opticon™ Real-Time PCR Detection System ⁽⁵⁾	QuantGene 9600
CFX Opus 96	Bio-Rad
Roche	CFX96™ Deep Well Real-Time PCR System
LightCycler @480 Real-Time PCR System ⁽¹⁾⁽⁶⁾	CFX96™ Deep Well IDV Real-Time PCR System
LightCycler @96 Real-Time PCR System	iCycler iQ™ Real-Time PCR Detection System
Cobas z480 Analyzer ⁽¹⁾⁽⁶⁾	iCycler iQ™5 Real-Time PCR Detection System
	My iQ™ Real-Time PCR Detection System ⁽⁵⁾
	My iQ™ 2 Real-Time PCR Detection System ⁽⁵⁾
Formatos especiales ⁽⁷⁾	DNA-Technology
Bio Molecular Systems	DTlite Real-Time PCR System ⁽⁸⁾
Mic Real Time PCR Cyclor	DTprime Real-time Detection Thermal Cyclor ⁽⁸⁾
Cepheid	Eppendorf
SmartCycler®	Mastercycler™ ep <i>realplex</i>
Qiagen	Qiagen
Rotor-Gene® Q	QIAquant 96 ⁽⁶⁾

- (1) Se necesita un soporte especial que ajuste con estos equipos de PCR a tiempo real.
 (2) Seleccionar Ramp Speed "Standard" en el menu Select New Experiment/Advanced Setup/Experiment Properties.
 (3) No lectura en canal Cy5.
 (4) No lectura en canal ROX.
 (5) Lectura solo en canales FAM y HEX.
 (6) Se requiere compensación de color específica.
 (7) El producto se debe reconstituir siguiendo el procedimiento adecuado (ver Procedimiento de la prueba) y transvasar a los tubos específicos Mic, SmartCycler®, o Rotor-Gene® Q.
 (8) Ver Adjunto III para configurar los valores de exposición.

Adjunto II. Canales de detección de los equipos a tiempo real más comunes

Los canales de fluorescencia de algunos de los termocicladores a tiempo real más comunes se especifican en la siguiente tabla:

Termociclador	Canal Vitassay	Canal de Detección	Observaciones
Bio-Rad CFX96™	FAM	FAM	Durante los primeros ciclos de un análisis algunos pocillos pueden presentar valores de RFU anormales y mostrar una línea ascendente no sigmoidea. Para corregir este efecto, seleccione la opción Apply Fluorescence Drift Correction en el menú Configuración para la configuración de la línea base.
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Applied Biosystems ABI 7500	FAM	FAM	Opción del control pasivo ROX desactivada. Durante los primeros ciclos de un análisis algunos pocillos pueden presentar valores de RFU anormales y mostrar una línea ascendente no sigmoidea. Para corregir este efecto, seleccione los valores de ciclo Inicio y ciclo Final para que la línea de base finalice antes de la detección de una fluorescencia significativa.
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Roche Lightcycler®480II	FAM	465/510	Se requiere compensación de color.
	HEX	533/580	
	ROX	533/610	
	Cy5	618/660	
Roche Cobas z 480	FAM	465/510	Se requiere compensación de color.
	HEX	540/580	
	ROX	540/610	
	Cy5	610/670	
Cepheid Smartcycler®	FAM	Channel 1	
	HEX	Channel 2	
	ROX	Channel 3	
	Cy5	Channel 4	
Abbott m2000rt	FAM	FAM	
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Agilent Technologies Mx3000P™ Mx3005P™	FAM	FAM	Opción del control pasivo ROX desactivada.
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Bio Molecular Systems Mic Real Time PCR Cycler	FAM	Green	Introducir los parámetros correctos para "Temperature Control" (Standard TAQ (v3)), Volumen (20 ul) y el protocolo térmico (Menú "Run Profile"). Seleccionar "Acquire on" para todos los canales (haciendo click sobre ellos en ventana "Cycling"). Utilice los valores del "Gain" por defecto para cada canal (Green = 3, Yellow = 10, Orange = 10, Red = 10).
	HEX	Yellow	
	ROX	Orange	
	Cy5	Red	
Agilent Technologies AriaMx	FAM	FAM	
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene® Q	FAM	Green	Al configurar los canales, presione el botón "Gain Optimisation" y después vaya a "Optimise Acquiring". El rango de muestra objetivo de fluorescencia tiene que estar entre 5 y 10 FI para cada canal. Además, marque la opción "Perform Optimisation Before 1st Acquisition".
	HEX	Yellow	
	ROX	Orange	
	Cy5	Red	
BIONEER Exicycler™ 96	FAM	FAM	
	HEX	JOE	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	

Adjunto III. Configuración de los valores de exposición

Los valores de exposición de algunos termocicladores se deben ajustar para su correcto funcionamiento. Establecer los valores de exposición de la siguiente manera:

Termociclador	Canal Vitassay	Valor de exposición
DTlite Real-Time PCR System (DNA-Technology)	FAM	200
	HEX	500
	ROX	500
	Cy5	500
DTprime Real-time Detection Thermal Cycler (DNA-Technology)	FAM	500*
	HEX	500
	ROX	500
	Cy5	500

* En el caso de un resultado no esperado, sin amplificaciones o con un elevado ruido de fondo en el canal FAM, por favor, reduzca los valores de exposición indicados anteriormente hasta 150.

1) Vitassay qPCR HPV

PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

Kit para 32 determinaciones:



qPCR HPV

Bajo/Alto perfil 4 tiras x 8 pocillos



REF 7041037











2°C 40°C

LOT 1037-XXX

yyyymm-dd

HPV Strips	7041S037	8x4 strips	Vitassay Healthcare S.L.  Parque Tecnológico WALQA N-330 KM.566 22197-HESCA ESPAÑA
Positive Control	7C037	1 vial	
PCR Grade Water	7001A	1 vial x 1 mL	
Resuspension buffer	7002B	1 vial x 1,8 mL	
Negative Control	7003N	1 vial x 1 mL	
Tapas ópticas	7004O	4x8 caps	

Importado por: MEDICA-TEC S.R.L. Triunvirato 2789-Capital Federal

Director Técnico: Sergio Rozenberg MN:10223 " Autorizado por ANMAT PM-118-153"

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO. VENTA EXCLUSIVA A PROFESIONALES E INSTITUCIONES SANITARIAS

PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

HPV Strips

Bajo /Alto perfil 4 tiras x 8 pocillos

LOT 1037-xxx

yyyymm-dd

REF 7041037













2°C 40°C

Vitassay Healthcare, S.L.U.
 Parque Tecnológico WALQA
 Ctra. N-330 Km.566
 22197 Cuarte (Huesca, SPAIN)

HPV

POSITIVE CONTROL

LOT C037-xxx



yyyymm-dd

REF 7C037



2°C 40°C





PCR GRADE WATER

LOT 1A-xxx

VOL 1 mL

yyyymm-dd

REF 7001A



2°C 40°C





RESUSPENSION BUFFER

LOT 2B-xxx

VOL 1,8 mL

yyyymm-dd

REF 7002B



2°C 40°C





F09-13 Ed01

NEGATIVE CONTROL

LOT 3N-xxx

VOL 1 mL

yyyymm-dd

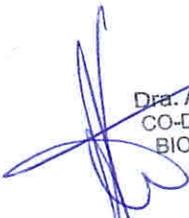
REF 7003N



2°C 40°C






 Dra. ANDREA M. TOROS
 CO-DIRECTORA TECNICA
 BIOQUIMICA M.N. 7440

2) Vitassay qPCR High-Risk HPVs

PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

Kit para 32 determinaciones:



qPCR High-Risk HPVs

Bajo / Alto perfil 8 tiras x 8 pocillos

REF 7041063 **LOT** 1063-xxxxyy yyyy-mm-dd

High-Risk HPVs 1 strip
 High-Risk HPVs 2 strip
 Positive Control
 PCR Grade Water
 Resuspension buffer
 Negative Control
 Tapas ópticas

7041S063A 8x4 strips
 7041S063B 8x4 strips
 7C063 1 vial
 7001A 1 vial x 1 mL
 7002B 1 vial x 1,8 mL
 7003N 1 vial x 1 mL
 7004O 8x8 caps

Vitassay Healthcare S.L.

Parque Tecnológico WALQA
 N-330 KM.566
 22197-HESCA ESPAÑA

Importado por: MEDICA-TEC S.R.L. Triunvirato 2789-Capital Federal

Director Técnico: Sergio Rozenberg MN:10223 " Autorizado por ANMAT PM-118-153"

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO. VENTA EXCLUSIVA A PROFESIONALES E INSTITUCIONES SANITARIAS

PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

High-Risk HPVs 1, HPVs 2 Strips

Bajo / Alto perfil 8 x 8 strips

LOT 1063-xxxxyy yyyy-mm-dd
REF 7041063

Vitassay Healthcare, S.L.U.
 Parque Tecnológico WALQA
 Ctra. N 330 Km.566
 22197 Cuarte (Huesca, SPAIN)

High-Risk HPVs

POSITIVE CONTROL

LOT C063-xxx
 yyyy-mm-dd **REF** 7C063

PCR GRADE WATER

LOT 1A-xxx **VOL** 1 mL

yyyy-mm-dd

REF 7001A

RESUSPENSION BUFFER

LOT 2B-xxx **VOL** 1,8 mL

yyyy-mm-dd

REF 7002B

NEGATIVE CONTROL

LOT 3N-xxx **VOL** 1 mL

yyyy-mm-dd

REF 7003N

Dra. ANDREA M. TOROS
 CO-DIRECTORA TECNICA
 BIOQUIMICA M.N. 7440



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: MEDICA TEC SRL. rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 24 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.12.19 07:51:51 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.12.19 07:51:52 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005744-23-2

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

Expediente N° 1-0047-3110-005744-23-2

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por MEDICA-TEC S.R.L. ; 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: PCR para HPV

Marca comercial: Vitassay

Modelos:

- 1) Vitassay qPCR HPV
- 2) Vitassay qPCR High-Risk HPVs

Indicación/es de uso:

- 1) Vitassay qPCR HPV: PCR en tiempo real para la detección cualitativa y diferenciación del virus del papiloma humano 16 y del virus del papiloma humano 18 en muestras humanas.
- 2) Vitassay qPCR High-Risk HPVs: PCR en tiempo real para la detección cualitativa simultanea de DNA genómico específico para 14 virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51,

52, 56, 58, 59, 66 y 68), y la identificación de los dos genotipos principales, VPH 16 y VPH 18, en muestras cervicales

Forma de presentación: Ambos modelos poseen las mismas formas de presentación, Kit para 32 determinaciones bajo perfil y kit para 32 determinaciones alto perfil.

1) Vitassay qPCR HPV

- Kit para 32 determinaciones, bajo perfil. Unidad de venta por kit (1 caja)

Cada caja contiene:

HPV Strips , 4 tiras de 8 pocillos (1 Bolsa de aluminio)

HPV Positive Control, 1 vial para 20 det (1 frasco)

PCR grade water, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Resuspension buffer, 1 vial x 1,8 ml (1 frasco)

Negative control, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Tapas ópticas, 4 tiras de 8 tapones (1 bolsa)

Formato para Termocicladores con bloque de bajo perfil

- Kit para 32 determinaciones, alto perfil, Unidad de venta por kit (1 caja)

Cada caja contiene:

HPV Strips, 4 tiras de 8 pocillos (1bolsa de aluminio)

HPV Positive Control, 1 vial para 20 det (1 frasco)

PCR grade water, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Resuspension buffer, 1 vial x 1,8 ml (1 frasco)

Negative control, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Tapas ópticas, 4 tiras de 8 tapones (1 bolsa)

Formato para Termocicladores con bloque de alto perfil

2) Vitassay qPCR High-Risk HPVs

- Kit para 32 determinaciones, bajo perfil, Unidad de venta por kit (1 caja)

Cada caja contiene:

High-Risk HPVs 1 Strips , 4 tiras de 8 pocillos + High-Risk HPVs 2 Strips , 4 tiras de 8 pocillos (1 bolsa de aluminio)

High-Risk HPVs Positive Control, 1 vial para 40 det 81 frasco

PCR grade water, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Resuspension buffer, 1 vial x 1,8 ml (1 frasco)

Negative control, 1 vial x 1 ml (1 frasco)

Tapas ópticas, 8 tiras de 8 tapones (1 bolsa)

Formato para Termocicladores con bloque de bajo perfil

- Kit para 32 determinaciones, alto perfil. Unidad de venta por kit (1 caja)

Cada caja contiene:

High-Risk HPVs 1 Strips , 4 tiras de 8 pocillos + High-Risk HPVs 2 Strips , 4 tiras de 8 pocillos (1 bolsa de aluminio)

High-Risk HPVs Positive Control, 1 vial para 40 det (1 frasco)

PCR grade water, 1 vial x 1 ml (1 frasco)
Resuspension buffer, 1 vial x 1,8 ml (1 frasco)
Negative control, 1 vial x 1 ml (1 frasco)
Tapas ópticas, 8 tiras de 8 taponos (1 bolsa)
Formato para Termocicladores con bloque de alto perfil

Período de vida útil: Vida útil: 24 meses
Conservación : de 2 a 40°C

Nombre del fabricante:
Vitassay Healthcare S.L.

Lugar de elaboración:
Parque Tecnológico Walqa N-330 Km.566, 22197
HUESCA- España

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 118-153 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente Nro:
1-0047-3110-005744-23-2

Nº Identificador Trámite: 52598

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.01.29 17:21:53 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires