



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Disposición

Número: DI-2018-1553-APN-ANMAT#MS

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Lunes 19 de Febrero de 2018

Referencia: 1-47-3110-982/17-7

VISTO el expediente N° 1-47-3110-982/17-7 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma TECNOLAB S.A. solicita autorización de modificación del registro del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado: **DIGENE® HC2 CT-GC DNA TEST, versión 2.**

Que lo solicitado se encuadra dentro de los alcances de la Disposición ANMAT N° 2674/99 y la documentación aportada ha satisfecho los requisitos de la normativa aplicable.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que se autoriza la modificación solicitada.

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

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 el por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

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

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la modificación del Certificado N° 2892 del producto para diagnóstico de uso in vitro denominado: **DIGENE® HC2 CT-GC DNA TEST, versión 2.**

ARTICULO 2º.- Acéptase la modificación en el nombre comercial, la forma de presentación y el origen de elaboración del producto **DIGENE® HC2 CT-GC DNA TEST, versión 2** que se comercializará en envases conteniendo: INDICADOR DE COLOR (1 x 0,35 ml), REACTIVO DE DESNATURALIZACIÓN (1 x 50 ml), DILUYENTE DE Sonda (1 x 5 ml), Sonda CT/GC (1 x 200 µL), CALIBRADOR NEGATIVO (1 x 2 ml), CALIBRADOR POSITIVO CT/GC (1 x 1 ml), MICROPLACA DE CAPTURA (1 unidad), REACTIVO DE DETECCIÓN 1 (1 x 12 ml), REACTIVO DE DETECCIÓN 2 (1 x 12 ml), BUFFER DE LAVADO CONCENTRADO (1 x 100 ml), CONTROL DE CALIDAD CT (1 x 1 ml) Y CONTROL DE CALIDAD GC (1 x 1 ml), que en lo sucesivo será elaborado por QUIAGEN. 19300 Germantown Rd. Germantown, MD 20874. (USA).

ARTÍCULO 3º.- Dése de baja al registro otorgado mediante Certificado N° 002892 del producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado PANEL DE CONTROL CT/GC DIGENE perteneciente a la firma TECNOLAB S.A

ARTICULO 4º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT.

ARTICULO 5º.- Practíquese la atestación de la presente disposición al Certificado de Inscripción N° 002892.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

Expediente N° 1-47-3110-982/17-7

Digitally signed by LEDE Roberto Luis
Date: 2018.02.19 09:03:58 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Roberto Luis Ledc
SubAdministrador
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -
GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,
ou=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE
MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT
30715117564
Date: 2018.02.19 09:04:00 -0300'

PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

digene® HC2 CT/GC DNA Test, versión 2 (Código del Producto 5130-1220)

digene®
HC2 CT/GC DNA Test,
version 2.0

0.35 ml Indicator Dye
50 ml Denaturation Reagent
5 ml Probe Diluent
200 µl CT/GC Probe
2 ml Negative Calibrator
1 ml CT/GC Positive Calibrator
1 each Capture Microplate
12 ml Detection Reagent 1
12 ml Detection Reagent 2
100 ml Wash Buffer Concentrate
1 ml CT Quality Control
1 ml GC Quality Control

QIAGEN
19300 Germantown Road
Germantown, MD 20874
USA
www.QIAGEN.com
+1 800-426-9137
Product of United States

ND V U PC

1089748 Rev. 05 Patent 6,221,581

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964 -
c1427cco. C.A.B.A. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino

ORIGEN DE ELABORACION: QIAGEN, 19300 Germantown
Rd, Germantown, MD 20874. USA.

AUTORIZADO POR A.N.M.A.T.

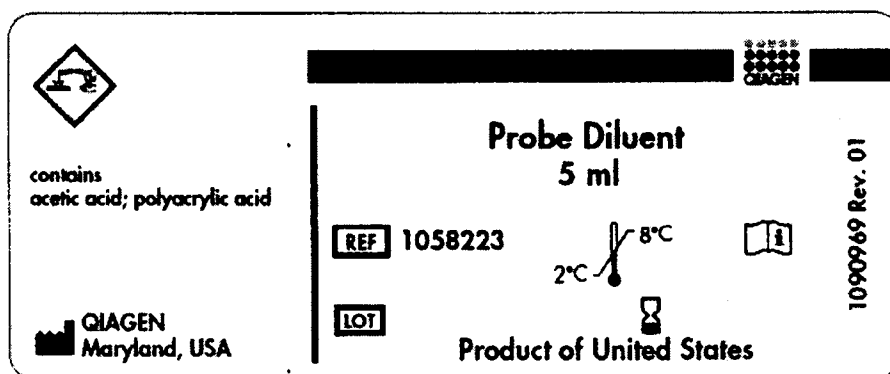
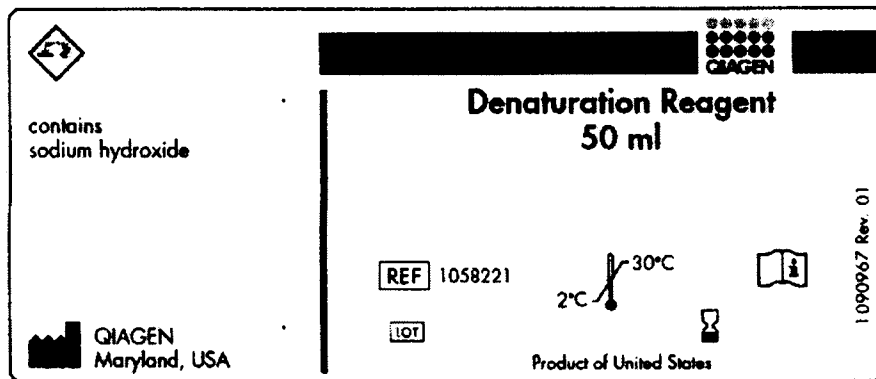
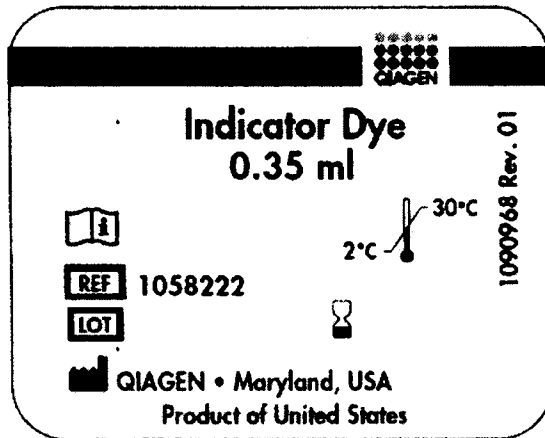
CERTIFICADO N°: 002892

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT. TECNOLAB S.A.

IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT

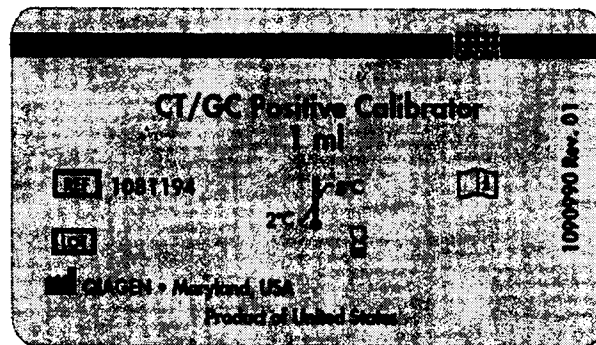
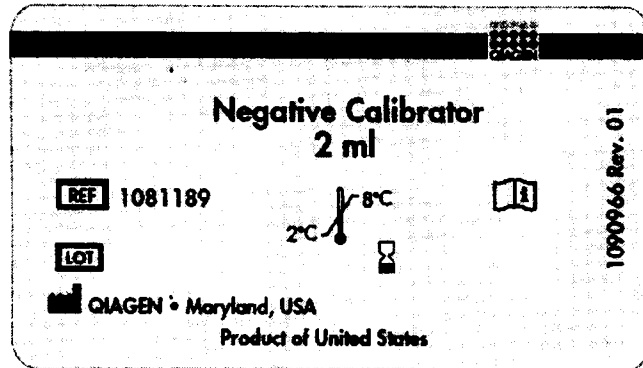
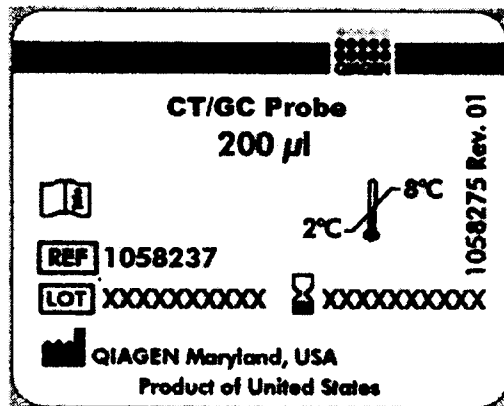
PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

digene® HC2 CT/GC DNA Test, versión 2 (Código del Producto 5130-1220)



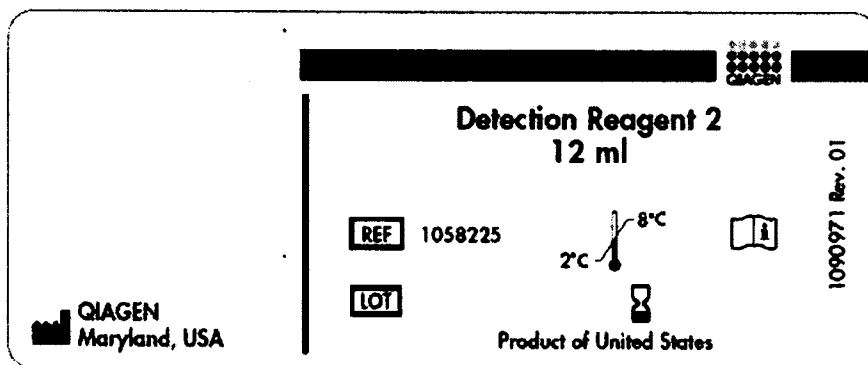
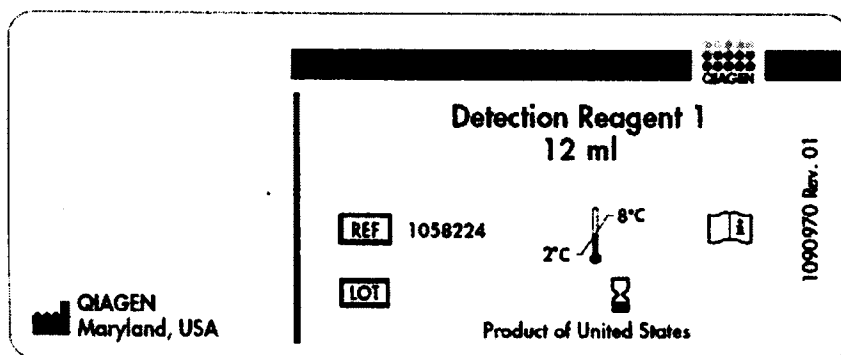
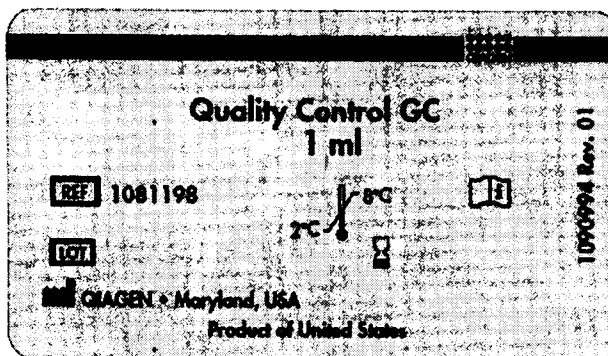
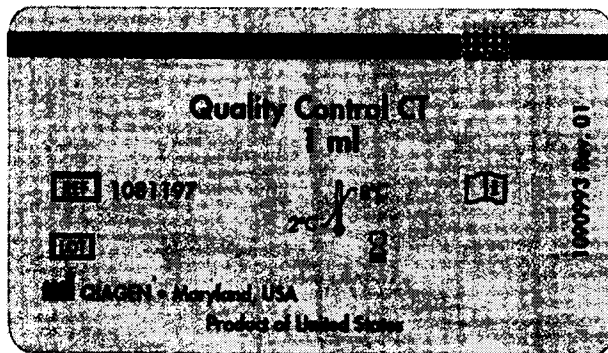
MARISOL MASINO
BIOQUIMICA M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A

IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT



MARISOL MASINO
BIOQUIMICA M.N. 9483
DT. TECNOLAB S.A.

IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT



MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M. N. 9483
DT - TECNO LAB S.A.

IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT

contains sodium azide

Qiagen
Maryland, USA

Qiagen

Wash Buffer Concentrate
100 ml

REF 1059688

LOT

2°C 30°C

Product of United States

1090972 Rev. 01

~~MARISOL MASINO
BIOQUIMICA M.N 9483
DT-TECNO LAB S.A.~~

Se deja esta página intencionalmente en blanco.

Prueba de ADN «digene® HC2 CT/GC DNA Test», versión 2.0

Un ensayo de microplacas de hibridación de ácido nucleico con amplificación de señales para la detección quimioluminiscente del ADN de *Chlamydia trachomatis* (CT) y *Neisseria gonorrhoeae* (GC) en especímenes cervicales.

Para uso con:

Dispositivo de recolección de ADN «digene® HC2 DNA Collection Devices»
Kit de recolección de especímenes con hisopo vaginal «digene® HC Female Swab Specimen Collection Kits»

CAMBIOS CLAVES DE LA REVISIÓN DEL PROSPECTO ANTERIOR

1. Información del fabricante y marca de producto actualizadas.

Para uso profesional solamente, por personal de laboratorio capacitado y validado.
Lea estas instrucciones cuidadosamente antes de usar la prueba.

REF

51301220

IVD



96



QIAGEN
19300 Germantown Road
Germantown, MD 20874
USA

1059751ES Rev. 01

MARISOL MASINO
BIQUÍMICA S.A. 9403
DT. TÉCNICO LAB S.A.



Sample & Assay Technologies

INDICE

NOMBRE Y USO INDICADO.....	5
RESUMEN Y EXPLICACIÓN.....	6
PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO.....	8
REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS.....	9
GLOSARIO DE SIMBOLOS.....	10
MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS.....	11
ALERTAS Y PRECAUCIONES.....	13
PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS.....	16
RECOLECCIÓN Y MANEJO DE ESPECIMENES.....	18
PROCEDIMIENTO DE PRUEBA.....	19
Pruebas de producción de muestras de alto volumen usando la aplicación RCS.....	19
Método manual.....	19
Desnaturalización.....	20
Método de Vortexer de tubos multiespecímenes.....	21
Método de colocación en vértice de tubos manual/individual.....	21
Hibridación.....	21
Hybrid Capture (captura híbrida).....	22
Hybrid Detection (detección híbrida).....	23
Lavado.....	24
Método manual de lavador de placas automatizado.....	24
Método manual de lavado.....	24
Amplificación de señales.....	25
CRITERIOS DE VERIFICACIÓN DE CALIBRACIÓN DE ENSAYOS.....	26
CALCULO DEL CORTE.....	28
CONTROL DE CALIDAD.....	29
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ESPECIMENES.....	30
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.....	32
RESULTADOS ESPERADOS.....	35
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO.....	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
GUÍA DE IDENTIFICACIÓN Y RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS.....	53
Verificación de contaminación.....	57
INFORMACIÓN DE CONTACTO.....	58
RESUMEN DE LA PRUEBA DE ADN «digene® HC2 CT/VC DNA TEST».....	BACK COVER

Se deja esta página intencionalmente en blanco.

IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT

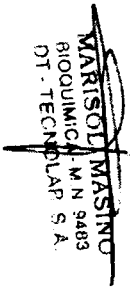
NOMBRE Y USO INDICADO

La prueba de ADN «digene® Hybrid Capture® 2 (hc2) CT/GC DNA Test» es un ensayo de hibridación de ácido nucleico *in vitro* con amplificación de sondas usando quimoluminiscencia para la detección cualitativa combinada de ADN de *Chlamydia trachomatis* (CT) y *Neisseria gonorrhoeae* (GC) en especímenes cervicales recolectados con el dispositivo de recolección de ADN «digene HC2 DNA Collection Device» (cepillo cervical y medio de transporte de especímenes «digene Specimen Transport Medium» [STM]) o el kit de recolección de especímenes con hisopo genital «digene Hybrid Capture (HC) Female Swab Specimen Collection Kit» (hisopo Dacron® y STM). Se requieren pruebas de seguimiento usando las pruebas de ADN «digene HC2 CT-ID» y «digene HC2 GC-ID» para identificar el(los) organismo(s) presente(s) en los especímenes prueba de ADN digene HC2 CT/GC positivos. La prueba de ADN digene HC2 CT/GC está indicada para su uso como prueba inicial para identificar a las mujeres sintomáticas o asintomáticas con infección con *Chlamydia trachomatis* (CT) y/o *Neisseria gonorrhoeae* (GC).

Para las pruebas de producción de muestras de alto volumen, puede realizarse la prueba de ADN digene HC2 CT/GC usando la aplicación del instrumento del sistema «Rapid Capture® System» (RCS).

Para uso de diagnóstico *in vitro* **MD**

5

**MARISOL MASINO**
BIOQUÍMICA M.N. 9483
DT. TECNOLAP S.A.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Considerado comúnmente, *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* representan la incidencia más grande de enfermedad comunicable en los Estados Unidos de Norteamérica para el Control de Enfermedades (CDC), por su sigla en inglés) registraron más de 300,000 casos de infección de *Chlamydia* y más de 300,000 casos de infección gonorréica en 1996.^{1, 2} Ambos patógenos son de particular preocupación porque, en la mayoría de los países desarrollados, se propagan rápidamente entre los individuos jóvenes y sexualmente activos. La mayoría de los cuales permanecen asintomáticos el suficiente tiempo para pasar la infección a otros. Si bien la mayoría de las infecciones en los hombres evolucionan rápidamente para producir síntomas que los llevan a buscar tratamiento, la incidencia de infecciones asintomáticas en mujeres es mucho mayor y las bacterias frecuentemente quedan sin detectarse hasta el desarrollo de complicaciones serias. Como la enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) y la infertilidad.³ El número de visitas ambulatorias a médicos por EIP sintomática en los Estados Unidos de Norteamérica solo es de más de 2.5 millones; se hospitaliza a más de 250,000 mujeres cada año con más de 100,000 procedimientos quirúrgicos realizados debido a EIP.^{4, 5} En respuesta a estos desafíos, el CDC ha abogado por las pruebas rutinarias de *Chlamydia trachomatis* de muchachas adolescentes asintomáticas y sexualmente activas durante los exámenes ginecológicos, y sugieren más que las mujeres adultas jóvenes de 20 a 24 años de edad también sean analizadas, particularmente si no usan anticonceptivos de barrera o tengan parejas nuevas o múltiples.

Infecciones con *Chlamydia*

Las *Chlamydia* son organismos Gram negativos con un ciclo de vida biológica que comprende infecciones y formas reproductoras morfológicamente distintas.⁶ El genoma *Chlamydia trachomatis* es relativamente pequeño, midiendo aproximadamente 1×10^6 pares base.⁷ La forma infecciosa es un cuerpo elemental que no puede dividirse y vive solamente para escapar la infección de una célula a otra. Una vez dentro de una célula huésped, los cuerpos elementales se ensamblan en vacuolas unidas por membranas para producir formas reproductivas de *Chlamydia* metabólicamente activas, o cuerpos reticulados. La replicación es totalmente dependiente de ATP huésped y se logra a través de filón binaria dentro de las inclusiones citoplasmáticas rificadas, produciendo una nueva generación de cuerpos elementales que se liberan posteriormente para infectar otras células. Las *Chlamydia* también son distinguidas por un hipoplasacido específico de género y unido por membranas que ha servido como una fuente de antígeno para la producción de anticuerpos de diagnóstico.

Los métodos convencionales para la detección directa de *Chlamydia trachomatis* en especímenes clínicos incluyen yodo o tinción de Giemsa del organismo seguido de una evaluación microscópica¹⁰ o el uso más sensible de anticuerpos conjugados con fluorocroma (DFA, por su abreviatura en inglés).¹¹ Sin embargo, estos métodos se acercan solamente a una sensibilidad del 70 al 85% cuando se comparan con las técnicas de cultivo celular óptimo.¹² El procedimiento más ampliamente aceptado para la detección de *Chlamydia* es la infección de células de McCoy en el cultivo. Posteriormente se usan los anticuerpos conjugados con fluoresceína para detectar la inclusión intracitoplásmica creadas por elementos reproductivos en las células infectadas.¹³ Un cultivo celular óptimo tiene una excelente sensibilidad y especificidad para la detección de estos organismos, pero es un procedimiento complejo, caro y consumidor de tiempo. Los resultados no están generalmente disponibles por 48-72 horas postinoculación.¹⁴ También se usan los inmunosayos enzimáticos para detectar los antígenos de *Chlamydia*,¹⁵ y parecen ser ligeramente más sensibles y ligeramente menos específicas que los abordajes de anticuerpos fluorescentes directos.¹⁶ También están disponibles pruebas de ácido nucleico para la detección de una variedad de blancos de *Chlamydia*, incluyendo el ADN cromosómico, ARNm, y el plásmido cíclico común para la vasta mayoría de cepas de *Chlamydia trachomatis*. Estos métodos varían en sensibilidad y especificidad, pero en general la especificidad se acerca a aquél del cultivo y la sensibilidad se acerca o excede el desempeño de los métodos de cultivo.^{16, 17}

Infecciones gonocócicas

Neisseria gonorrhoeae son diplococos no móviles y Gram negativos con requisitos de crecimiento bastante complejos. Son aerobios, produciendo un crecimiento óptimo a temperaturas en el rango de 35-37° C en presencia de CO₂ al 3-7% y una humedad relativa e 70%. Se adquiere

6

IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT

tradicionalmente el supuesto diagnóstico para *Neisseria gonorrhoeae* aislando organismos de cultivos de especímenes clínicos y usando una capa de Gram para el examen morfológico. Pueden obtenerse diagnósticos definitivos con una prueba de oxidasa y/o catalasa positiva del cultivo. La confirmación adicional de los resultados incluye pruebas de degradación y aglutinación de carbohidratos, y fermentación de azúcares. Pruebas directas y más definitivas para *Neisseria gonorrhoeae* incluyen la detección de antígeno y pruebas de sondas de ácido nucleico. Se ha demostrado que un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas es tan sensible y específico como la capa de Gram para detectar los gonococos en especímenes uretrales masculinos y de otra de primera micción, pero ha reducido la sensibilidad cuando se aplica a especímenes endocervicales. 1, 2 Ya que la prueba de detección de antígeno puede reaccionar de manera cruzada con especies de *Neisseria* y relaciones con otras especies, solamente se puede usar esta prueba para un probable diagnóstico.

Más recientemente, se ha usado pruebas de hibridación de ácido nucleico para evaluar especímenes clínicos para la detección de *Neisseria gonorrhoeae* en poblaciones de alto riesgo que usan tanto especímenes uretrales masculinos como endocervicales.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La prueba de ADN «*digene* HC2 CT/GC DNA Test» que usa la tecnología Hybrid Capture 2 es un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos con amplificación de señales que utiliza la detección quimioluminiscente de micropelotas. Los especímenes que contienen el ADN blanco se hibridan con un cóctel de sondas de ARN de CT/GC. Se capturan los híbridos de ARN:ADN resultantes en la superficie de un microportador cubierto con anticuerpos específicos para los híbridos de ARN:ADN. Posteriormente se reaccionan los híbridos inmunizados con anticuerpos conjugados con fosfatasas alcalinas específicas para híbridos de ARN:ADN, y se detectan con un sustrato quimioluminiscente. Se conjugan varias moléculas de fosfatasas alcalinas a cada anticuerpo. Múltiples anticuerpos conjugados se unen a cada híbrido capturado dando como resultado una amplificación de señales sustancial. Conforme el sustrato es segmentado por la fosfatasa alcalina unida, se emite luz, la cual se mide como unidades relativas de luz (URL) en un luminómetro. La intensidad de la luz emitida denota la presencia o ausencia de ADN blanco en el espécimen.

Una medición de URL igual o mayor a una razón especificada al valor de corte (CO), por su abreviatura en inglés, positivo indica la presencia de ADN de *Chlamydia* y/o *Neisseria* en el espécimen. Una medición de URL menor a una razón especificada al valor de corte positivo indica la ausencia de ADN de *Chlamydia* y *Neisseria* o niveles de ADN de *Chlamydia* y *Neisseria* por debajo del límite de detección del ensayo.

El cóctel de sondas de CT/GC contiene una mezcla de sondas específicamente escogida para eliminar o minimizar la reactividad cruzada con secuencias de ADN de células humanas, otras especies bacterianas, especie *Chlamydia* aparte de *Chlamydia trachomatis* o la especie de *Neisseria* aparte de *Neisseria gonorrhoeae*. El cóctel de sondas de CT/GC suministrado con la prueba de ADN «*digene* HC2 CT/GC» es comparable a aproximadamente 39,300 copias (4%) del ADN genómico de *Chlamydia trachomatis* (1×10^8 pb) y 7,500 pb ó 100% del plásmido cryptic; y 9,700 pb (0,5%) del ADN genómico de *Neisseria gonorrhoeae* ($1,8 \times 10^8$ pb) y 4,200 pb ó 100% del plásmido cryptic. Un espécimen positivo por la prueba de ADN «*digene* HC2 CT/GC» debe ser probado por la prueba de ADN «*digene* HC2 CT-ID DNA Test» o la prueba de ADN «*digene* HC2 GC-ID DNA Test» u otro método para verificar la detección del organismo.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA M.N. 3463
LAB. S.A.
DT. TECN.

REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS

Hay 96 pruebas en un kit de prueba de ADN dígame HC2 CT/GC (REF 5130-1220). Variará el número de resultados de pacientes, dependiendo del número de usos por kit:

- 1 uso = 96 resultados de pacientes
- 2 usos = 80 resultados de pacientes
- 3 usos = 72 resultados de pacientes
- 4 usos = 64 resultados de pacientes

- 1 x 0.35 mL Coeficiente indicador
- 1 x 50 mL Reactivo de desnaturalización*
- 1 x 5 mL Solución diluida de hidróxido de sodio (NaOH).
- 1 x 200 µL Diluyente de sonda *
- 1 x 2 mL Solución amortiguada con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 1 mL Sonda de CT/GC
- 1 x 2 mL Cebada de sondas de ARN de CT/GC en solución amortiguada.
- 1 x 1 mL Calibrador negativo *
- 1 x 1 mL ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 1 mL Calibrador positivo (PC) de CT/GC *
- 1 x 1 mL 1.0 pg/mL de ADN de CT y GC donado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 1 mL CT de control de calidad (CT de QC)
- 1 x 1 mL 5.0 pg/mL de ADN de CT donado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 1 mL GC de control de calidad (GC de QC)
- 1 x 1 mL 5.0 pg/mL de ADN de GC donado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 1 Microplaca de captura
- 1 x 1 Cubierta con anticuerpos híbridos anti-ARN/ADN policlonales cabrios.
- 1 x 12 mL Reactivo de detección 1
- 1 x 12 mL Anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina a híbridos de ARN/ADN en solución amortiguada con 0.05% (w/v) de azida de sodio.
- 1 x 12 mL Reactivo de detección 2
- 1 x 100 mL CDP-Star con Emerald II (sustrato quimoluminiscente).
- 1 x 100 mL Concentrado de solución amortiguadora de lavado *
- 1 x 100 mL Contiene azida de sodio al 1.5% (w/v)

* Véase la sección Advertencias y precauciones de este inserto para información de salud e inocuidad.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

REF ONLY
(RX SOLAMENTE)

Precaución: las leyes federales de EE.UU. restringen este dispositivo para su venta por o a nombre de un médico.


MARISOL MASINO
BIOTECNOLÓGICA S.A.
M.N. 9483
D.T. TECNOLOGÍA S.A.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

Equipo y accesorios de diagnóstico *in vitro* del sistema Hybrid Capture ^a
Sistema digene Hybrid Capture 2 (en lo sucesivo, denominado como «sistema digene HC2»), que consiste en un luminómetro aprobado por QiAGEN (en lo sucesivo, denominado como «luminómetro»), computador y periféricos para computadores aprobados por QiAGEN (monitor, teclado, ratón, impresora y cable para impresora), software del sistema digene HC2 (en lo sucesivo, denominado como «software de análisis de ensayos digene»), protocolos de ensayo del sistema digene HC2 para CT/GC, software para placas LumCheck, y *Guide de usuario del sistema digene Hybrid Capture 2*; 6 el equipo listado anteriormente con el software cualitativo «digene Qualexitive Software» versión 1.3.0 anterior (en lo sucesivo, denominado como «software de análisis de ensayos digene») y el *Manual de usuario del software cualitativo digene*.
Agitador giratorio I del sistema Hybrid Capture «Hybrid Capture System Rotary Shaker I», calentador de microplacas I del sistema Hybrid Capture «Hybrid Capture System Microplate Heater I»
Lavador de placas automatizado o aparato de lavado del sistema Hybrid Capture «Hybrid Capture System Automated Plate Washer or Wash Apparatus»
Vortexer 2 de tubos multiespecímenes del sistema Hybrid Capture: gradilla y tapa para gradilla de especímenes digene (opcional) ^b
Pipeta y soporte EXPAND-4 (opcional) ^c
Dispositivo de recolección de ADN «digene HC2 DNA Collection Device» (consiste en capillo cervical y medio de transporte de especímenes «digene Specimen Transport Medium») ^d
Kit de recolección de especímenes no hisopo vaginal «digene HC Female Swab Specimen Collection Kit» (consiste en 2 hisopos Dacron y medio de transporte de especímenes «digene Specimen Transport Medium») ^e
Dispensador de selladores de tubos y dispositivo de corte (opcional, usado con el Vortexer de tubos multiespecímenes) ^f
Sistema Rapid Capture (opcional para pruebas de producción de muestras de alto volumen) ^f
Tubos de recolección de especímenes
Gradilla para tubos de recolección de especímenes (para sujetar los tubos de recolección de especímenes)
Microplaca de hibridación
Taps para microplacas
Tiras de microplacas vacías (disponibles de Costar, modelo #2581); opcional para su uso con la lavadora de placas automatizada
Puntas para pipeta extensible para remoción de especímen
Tapa rosca para tubos de recolección de especímenes
Reservorios de reactivos desechables
Película selladora de tubos DuraSeal ^g
Equipo y accesorios para uso de laboratorio general
Baño maría a 65 ± 2 °C de sulfonate laminado para sujetar ya sea una gradilla de Vortexer de tubos multiespecímenes (36 x 21 x 9 cm) o dos gradillas para especímenes (cada uno de 31,7 x 15,2 x 6,4 cm)
Microcentrífuga (opcional para centrifugar viales de sondas para obtener un volumen de sonda máximo)
Mezclador de verificación con accesorio de copa
Micropipeta de un solo canal; configuraciones variables para volúmenes de 20-200 µL y 200-1000 µL
Pipeta de desplazamiento positivo repetidora, tales como la pipeta Eppendorf® Repeater®
Temporizador
Solución de hipoclorito de sodio, 5% v/v (o blanqueador doméstico)
Parafilm® o equivalente
Puntas para pipeta con barrera de aerosol desechables para pipeta de un solo canal (20 a 200 µL y 200-1000 µL)

Puntas desechables para pipeta Eppendorf Repeater (25 y 500 µL)
Puntas desechables para pipeta de ocho canales (25 a 200 µL)
Tasas Kometrol® o tasas de papel con poca pelusa equivalentes
Cubetas para mesa de trabajo desechable
Cuentas libres de polvo
Tubos de polipropileno con fondo redondo y tapa a presión de 5 mL y/o 15 mL (para dilución de sonda)
Tubos de microcentrífuga de polipropileno de 2.0 mL con tapas
^a Salvo el equipo y accesorios validados con las pruebas de ADN digene HC2 CT/GC están disponibles de QiAGEN
^b Reemplazar el repuesto de QiAGEN local.
^c Reemplazar el repuesto para su uso cuando se realiza la aplicación de PCR amplidominancia.
^d Reemplazar el repuesto de QiAGEN local.
^e Añadir pipeta de 1.3 cc. Reemplazar el repuesto cuando se requiere. De forma alternativa, puede usarse una pipeta de un solo canal con un volumen de 1.3 cc.
^f Se establecieron las características de desempeño de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC solamente con las listas de recolección indicadas.
^g Reemplazar a la *Guide de usuario del sistema Rapid Capture* para las instrucciones específicas para el uso de ese sistema para pruebas de producción de muestras de alto volumen con este ensayo.

MARISOL MASINO
BIQUIMICA M.N. 9483
DT. TECNOLOGIA S.A.

IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT

ALERTAS Y PRECAUCIONES
LEA TODAS LAS INSTRUCCIONES CUIDADOSAMENTE ANTES DE USAR LA PRUEBA.

Precauciones de seguridad

1. **MANEJE TODOS LOS ESPECIMENES Y MATERIALES DESECHADOS DEL ENSAYO COMO SI FUEREN CAPACES DE TRANSMITIR AGENTES INFECCIOSOS.** Deberán manejarse los especímenes de los pacientes en el nivel BSL 2 como es recomendado para cualquiera de los especímenes de suero o sangre humanos potencialmente infecciosos en el manual de CDC-NIH, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 3ª edición, 1993, pp. 10 - 13 y Lineamiento M2B-A aprobado por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*.
2. No fume, coma o bome en áreas donde se manejen reactivos o especímenes.
3. Use guantes libres de polvo desechables mientras maneje reactivos o especímenes. Lávese las manos completamente después de realizar la prueba.
4. Deberán desecharse todos los materiales usados en este ensayo, incluyendo los reactivos y especímenes, de una manera que neutralice los agentes infecciosos de conformidad con la normatividad nacional y local.
5. **Residuos líquidos:** Autoclave. Agregue hipoclorito de sodio a una concentración final de 0.5% (dilución 1:10 de blanqueador doméstico). Permita 30 minutos para su desinfección antes de su disposición.
6. **DERRAMES:** Limpie y desinfecte todos los derrames de especímenes usando un desinfectante tuberculocida, tales como el hipoclorito de sodio al 0.5%, u otro desinfectante idóneo. Deberán neutralizarse y secarse los derrames que contengan base, y posteriormente deberán limpiarse las áreas de derrame con una solución al 0.5% de hipoclorito de sodio. Deberá cubrirse el área impregnada con material absorbente saturada con una solución al 0.5% de hipoclorito de sodio y dejarse reposar durante por lo menos 10 minutos. Puede usarse una cubierta o bandaja de plástico para reducir la exposición a humos.
7. **Trate todos los materiales de limpieza como residuo bioactivo y deseché de conformidad con la normatividad nacional y local.**

PRUEBAS AUTOMATIZADAS CON RCS

Remítase al *Manual de usuario del sistema Rapid Capture* para Alertas y precauciones adicionales específicas para el uso de ese sistema para pruebas de producción de muestras de alto volumen.

MARISOL MASINO
 BIOQUÍMICA M.N 9483
 DT - TECNOLAB S.A

DECLARACIONES DE SEGURIDAD Y RIESGOS PARA LOS COMPONENTES

Aplican las siguientes frases de riesgo y seguridad a los componentes del kit de pruebas de ADN *digene* H2O CT/GC.

Concentrado de la solución amortiguadora de lavado



Contiene: azida de sodio. ¡Alerta! Dañino si se traga o inhala. Dañino para la vida acuática con efectos de larga duración. Evite su liberación al medioambiente. Desecha el contenido/contenedor a una planta de desecho residual aprobada.

Reactivo de desnaturalización



Contiene: hidróxido de sodio. ¡Peligro! Causa quemaduras a la piel y daño a los ojos severos. Puede ser corrosivo a los metales. Desecha el contenido/contenedor a una planta de desecho residual aprobada. SI SE ENCUENTRA EN LOS OJOS: enjuague cuidadosamente con agua por varios minutos. Quite las lentes de contacto, si están presentes y es fácil de hacer. Continúe enjuagando. SI SE ENCUENTRA EN LA PIEL (o cabello): quite inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuague la piel con agua/corriente. Láve inmediatamente a un CENTRO TOXICOLÓGICO o doctor/infecto. Almacénele con seguro. Use guantes protectores/ropa protectora/protección para los ojos/protección para el rostro.

Diluyente de la sonda



Contiene: ácido acético. ¡Peligro! Causa quemaduras a la piel y daño a los ojos severos. Desecha el contenido/contenedor a una planta de desecho residual aprobada. SI SE ENCUENTRA EN LOS OJOS: enjuague cuidadosamente con agua por varios minutos. Quite las lentes de contacto, si están presentes y es fácil de hacer. Continúe enjuagando. SI SE ENCUENTRA EN LA PIEL (o cabello): quite inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuague la piel con agua/corriente. Láve inmediatamente a un CENTRO TOXICOLÓGICO o doctor/infecto. Almacénele con seguro. Use guantes protectores/ropa protectora/protección para los ojos/protección para el rostro.

Calibrador positivo de CT/GC

¡Alerta! Causa irritación leve a la piel. Si ocurre irritación a la piel: consiga consulta/atención médica.

Control de calidad de CT

¡Alerta! Causa irritación leve a la piel. Si ocurre irritación a la piel: consiga consulta/atención médica.

Control de calidad de GC

¡Alerta! Causa irritación leve a la piel. Si ocurre irritación a la piel: consiga consulta/atención médica.

Calibrador negativo

¡Alerta! Causa irritación leve a la piel. Si ocurre irritación a la piel: consiga consulta/atención médica.

MÁS INFORMACIÓN


Hojas de datos de seguridad: www.digene.com/lsafety

PRECAUCIONES DE MANEJO

1. Para uso de diagnóstico *in vitro*
2. Cepillo cervical para uso con mujeres no embarazadas solamente.
3. No use los reactivos más allá de la fecha de caducidad en el envase de la caja exterior.
4. Se han probado estos componentes como una unidad. No intercambie los componentes de otras fuentes o de distintos lotes.
5. Los ácidos nucleicos son muy sensibles a la degradación de nucleasa medioambiental. Las nucleasas están presentes en la piel humana y en superficies o materiales maneados por humanos. Limpie y cubra las superficies de trabajo con alcohol y desechables y use guantes libres de polvo cuando realice todas las etapas del ensayo.
6. Deberá tenerse cuidado para prevenir la contaminación de la microplaca de captura y el reactivo de detección 2 con fosfatas alcalinas exógenas durante la realización del ensayo. Las sustancias que pueden contener fosfatas alcalinas incluyen reactivo de detección 1, bacterias, saliva, cabello y aceites de la piel. Cubrir la microplaca de captura después de la etapa de lavado y durante la etapa de incubación del reactivo de detección 2 es especialmente importante porque la fosfatasa alcalina exógena puede reaccionar con el reactivo de detección 2 produciendo resultados falsos positivos.
7. Profundice el reactivo de detección 2 de una exposición prolongada a la luz directa. Use el reactivo inmediatamente después de dividir en partes alícuotas y evitar la luz solar directa.
8. Deberá tenerse cuidado en suministrar los volúmenes correctos de reactivos a los tubos de reacción y microplacas en todas las etapas y en mezclar bien después de cada adición de reactivo. Deberá enjuagarse la pipeta repetidamente por antibiótico del suministro de reactivo y verificarse por burbujas de aire grandes de forma periódica. Cantidades excesivas de burbujas de aire grandes en la punta de la pipeta repetidamente pueden causar un suministro inexacto y pueden evitarse llenando la pipeta, dispensando todo el líquido, y sellando. Véanse los manuales de instrucciones de la pipeta para instrucciones de uso específicas.
9. Deberá realizarse el pipeteo multicanales usando la técnica de pipeteo reverso para desecar los reactivos de detección 1 y 2. Verifique cada punta de pipeta en la pipeta multicanales para un ajuste y lavado apropiados. Véase las instrucciones de uso específicas.
10. Deberá tenerse cuidado durante el lavado para asegurarse de que cada micropozo esté completamente lavado. Un lavado inadecuado dará como resultado un fondo incrementado y puede causar resultados falsos positivos. La solución amortiguadora de lavado residual en los pozos puede dar como resultado una señal reducida o una pobre reproducibilidad.
11. Deje que se equilibre 60 minutos el calentador de microplacas 1 a temperatura desde un inicio frío. No dejar este período de calentamiento podría dar como resultado la fusión de la microplaca de hibridación. Consulte el Manual del operador del calentador de microplacas y para detalles.

MARISOL MASINO
BIQUIMICA M.N 9483
DI. TECNOLAB S.A.

PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS

1. Al recibirlo, conserve el kit a 2-8° C. Pueden conservarse el concentrado de la solución amortiguadora de lavado, el reactivo de desnaturalización y el colorante indicador a 2-30° C. como se desea.
 2. No se use después de la fecha de caducidad indicada junto al símbolo  en el envase de la caja exterior o la fecha de caducidad de los reactivos preparados (véase a continuación).
 3. Se proporcionan todos los reactivos listos para usarse, excepto el reactivo de desnaturalización, la mezcla de sondas de CT/GC y la solución amortiguadora de lavado.
- Remítase a la Guía de usuario del sistema Rapid Capture para la preparación de la mezcla de sondas de CT/GC, la solución amortiguadora de lavado, el reactivo de detección 1 y el reactivo de detección 2. Ya que estas instrucciones son específicas para el uso de este sistema para pruebas de producción de muestras de alto volumen.

Método de preparación de reactivos

PREPARE PRIMERO: añada 5 gotas de colorante indicador a la botella de reactivo de desnaturalización y mezcle completamente. El reactivo de desnaturalización debería ser de un color purpura oscuro y uniforme.

Una vez preparado, el reactivo de desnaturalización está estable por tres meses cuando se conserve a 2-8° C. Etiquetado con la fecha de caducidad nueva. Si se desajusta el color, añada 3 gotas adicionales de colorante indicador y mezcle completamente antes de su uso.

Advert: el reactivo de desnaturalización es corrosivo. Use ropa protectora, guantes, y protección de ojos para los ojos. **Evite el contacto en su mango.**

PREPARE SEPARATEMENTE LA INCUBACIÓN DE DESNATURALIZACIÓN DE REACTIVOS:

IMPORTANTE: ALGUNAS VECES LA SONDA SE QUEDA ATRAPADA EN LA TAPA DEL VIAL.

Reactivos de desnaturalización	Mezcla de sondas de CT/GC (preparada en la sonda de CT/GC y los reactivos de diluyente de la sonda)																		
<p>PREPARE PRIMERO: añada 5 gotas de colorante indicador a la botella de reactivo de desnaturalización y mezcle completamente. El reactivo de desnaturalización debería ser de un color purpura oscuro y uniforme.</p> <p>Una vez preparado, el reactivo de desnaturalización está estable por tres meses cuando se conserve a 2-8° C. Etiquetado con la fecha de caducidad nueva. Si se desajusta el color, añada 3 gotas adicionales de colorante indicador y mezcle completamente antes de su uso.</p> <p>Advert: el reactivo de desnaturalización es corrosivo. Use ropa protectora, guantes, y protección de ojos para los ojos. Evite el contacto en su mango.</p> <p>PREPARE SEPARATEMENTE LA INCUBACIÓN DE DESNATURALIZACIÓN DE REACTIVOS:</p> <p>IMPORTANTE: ALGUNAS VECES LA SONDA SE QUEDA ATRAPADA EN LA TAPA DEL VIAL.</p>	<p>Nota: deberá tenerse mucho cuidado en esta etapa para prevenir la contaminación de RNAs de la sonda y la mezcla de la sonda. Use puntas para pipeta con barrera de contacto para pipetear la sonda. El diluyente de la sonda es viscoso. Deberá tenerse cuidado en asegurar un mezclado completo cuando prepare la mezcla de sondas de CT/GC. Debe formarse un vórtice visible en el líquido durante la etapa de mezclado. Una mezcla incompleta puede dar como resultado una señal reducida.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Centrifuge el vial de la sonda de CT/GC brevemente para lavar el líquido al fondo del vial. Golpee el tubo suavemente para mezclar. • Determine la cantidad de mezcla de sondas requerida (25 µL/porvial). Se recomienda que se haga una mezcla de sondas extra para justificar el volumen que puede perderse en las puntas para pipeta o en el contacto del vial. Forme una mezcla de volúmenes sugeridos listados más adelante. El número más pequeño de pozos recomendado para cada uso es 24. Si se desajusta menor de 24 pozos por cada sonda y de diluyente de sonda. • Pase la cantidad requerida de diluyente de sonda a un contenedor desechable nuevo. Dependiendo del número de pruebas, se recomienda ya sea un tubo de polipropileno de fondo redondo con tapa a presión de 5 mL o 15 mL. Prepare una dilución 1:25 de la sonda de CT/GC en el diluyente de sonda para preparar la mezcla de sondas. <table border="1"> <thead> <tr> <th>Nº de sondas/álícuotas</th> <th>Volumen de diluyente de sonda *</th> <th>Volumen de sonda *</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>96/12</td> <td>4.0 mL</td> <td>160.0 µL</td> </tr> <tr> <td>72/8</td> <td>3.0 mL</td> <td>120.0 µL</td> </tr> <tr> <td>48/6</td> <td>2.0 mL</td> <td>80.0 µL</td> </tr> <tr> <td>24/3</td> <td>1.0 mL</td> <td>40.0 µL</td> </tr> <tr> <td>Por pozo</td> <td>0.345 mL</td> <td>1.5 µL</td> </tr> </tbody> </table> <p>* Estos valores incluyen el volumen extra recomendado.</p> <p>Pipeteo la sonda en el diluyente de sonda colocando la punta para pipeta contra la pared interna del tubo justo por encima del menisco y expandiendo el contenido. No sumerja la punta en el diluyente de la sonda.</p>	Nº de sondas/álícuotas	Volumen de diluyente de sonda *	Volumen de sonda *	96/12	4.0 mL	160.0 µL	72/8	3.0 mL	120.0 µL	48/6	2.0 mL	80.0 µL	24/3	1.0 mL	40.0 µL	Por pozo	0.345 mL	1.5 µL
Nº de sondas/álícuotas	Volumen de diluyente de sonda *	Volumen de sonda *																	
96/12	4.0 mL	160.0 µL																	
72/8	3.0 mL	120.0 µL																	
48/6	2.0 mL	80.0 µL																	
24/3	1.0 mL	40.0 µL																	
Por pozo	0.345 mL	1.5 µL																	

Soluciones amoniguadoras de lavado	<ul style="list-style-type: none"> Calcular en volumen durante por lo menos 5 segundos a máxima velocidad para mezclar completamente. Deben producirse un volumen visible. Ejercer como Mezcla de sonda de CTGC y guardar en un contenedor limpio y cerrado hasta que está listo para su uso. Deben conservarse la mezcla de lavado en un lugar fresco. 																		
<p>PREPARE DURANTE LA ETAPA DE CAPTURAS:</p> <p>Para el lavador de placas automatizadas del sistema Hybrid Capture, puede prepararse la solución amoniguadora de lavado como se describe a continuación y almacenarse en un contenedor cubierto o preparado 1 L a la vez y colocarse en los reservorios del lavador de placas automatizado. Véase la tabla a continuación para mezclas los volúmenes.</p> <p>Véase el Manual del operador para instrucciones de cuidado y mantenimiento del lavador de placas automatizado.</p> <p>Atención: el concentrado de la solución amoniguadora de lavado es ácido por ingestión. Use ropa protectora, guantes, y protección para ojos/rostro adecuada. Para minimizar la exposición, añada agua al concentrado de la solución amoniguadora de lavado cuando se prepare.</p> <p>Cantidad de concentrado de solución amoniguadora de lavado</p> <table border="1" data-bbox="877 403 1037 851"> <tr> <td>33.3 mL</td> <td>866.7 mL</td> <td>1 L</td> </tr> <tr> <td>66.6 mL</td> <td>1,933.4 mL</td> <td>2 L</td> </tr> <tr> <td>100.0 mL</td> <td>2,900.0 mL</td> <td>3 L</td> </tr> </table> <p>Nota: siempre es muy importante dejar presionado el lavador de placas automatizado en todo momento. Esto garantiza que se realice el enjuague de neutralización después de ocho horas de actividad.</p> <p>Antes de cada corrida del ensayo, asegúrese de que el reservorio residual del lavador de placas automatizado está vacío y que el reservorio de enjuague está lleno con agua destilada o estérilizada.</p> <p>Para el método manual de lavado de placas:</p> <ul style="list-style-type: none"> Mezcle el concentrado de la solución amoniguadora de lavado bien. Diluya 100 mL del concentrado de la solución amoniguadora de lavado con 2.9 L de agua destilada o estérilizada y mezcle bien (el volumen final debe ser de 3 L). Cierre el contenedor para prevenir una contaminación o evaporación. <p>Una vez preparada, la solución amoniguadora de lavado está estable por las masas a 2-30° C. Equivalete con la nueva fecha de caducidad. Si se ha refrigerado la solución amoniguadora de lavado, equívale a 15-30° C antes de su uso.</p> <p>Se recomienda que el espacio de lavado y la tubería se limpien con solución al 0.5% de hipoclorito de sodio y se enjuaguen completamente con agua destilada o estérilizada una vez cada tres meses para prevenir una posible contaminación de losetas de calcio presente en las celdas y montos.</p>	33.3 mL	866.7 mL	1 L	66.6 mL	1,933.4 mL	2 L	100.0 mL	2,900.0 mL	3 L	<p>PREPARE DURANTE LA ETAPA DE CAPTURAS:</p> <p>Para el lavador de placas automatizadas del sistema Hybrid Capture, puede prepararse la solución amoniguadora de lavado como se describe a continuación y almacenarse en un contenedor cubierto o preparado 1 L a la vez y colocarse en los reservorios del lavador de placas automatizado. Véase la tabla a continuación para mezclas los volúmenes.</p> <p>Véase el Manual del operador para instrucciones de cuidado y mantenimiento del lavador de placas automatizado.</p> <p>Atención: el concentrado de la solución amoniguadora de lavado es ácido por ingestión. Use ropa protectora, guantes, y protección para ojos/rostro adecuada. Para minimizar la exposición, añada agua al concentrado de la solución amoniguadora de lavado cuando se prepare.</p> <p>Cantidad de concentrado de solución amoniguadora de lavado</p> <table border="1" data-bbox="877 403 1037 851"> <tr> <td>33.3 mL</td> <td>866.7 mL</td> <td>1 L</td> </tr> <tr> <td>66.6 mL</td> <td>1,933.4 mL</td> <td>2 L</td> </tr> <tr> <td>100.0 mL</td> <td>2,900.0 mL</td> <td>3 L</td> </tr> </table> <p>Nota: siempre es muy importante dejar presionado el lavador de placas automatizado en todo momento. Esto garantiza que se realice el enjuague de neutralización después de ocho horas de actividad.</p> <p>Antes de cada corrida del ensayo, asegúrese de que el reservorio residual del lavador de placas automatizado está vacío y que el reservorio de enjuague está lleno con agua destilada o estérilizada.</p> <p>Para el método manual de lavado de placas:</p> <ul style="list-style-type: none"> Mezcle el concentrado de la solución amoniguadora de lavado bien. Diluya 100 mL del concentrado de la solución amoniguadora de lavado con 2.9 L de agua destilada o estérilizada y mezcle bien (el volumen final debe ser de 3 L). Cierre el contenedor para prevenir una contaminación o evaporación. <p>Una vez preparada, la solución amoniguadora de lavado está estable por las masas a 2-30° C. Equivalete con la nueva fecha de caducidad. Si se ha refrigerado la solución amoniguadora de lavado, equívale a 15-30° C antes de su uso.</p> <p>Se recomienda que el espacio de lavado y la tubería se limpien con solución al 0.5% de hipoclorito de sodio y se enjuaguen completamente con agua destilada o estérilizada una vez cada tres meses para prevenir una posible contaminación de losetas de calcio presente en las celdas y montos.</p>	33.3 mL	866.7 mL	1 L	66.6 mL	1,933.4 mL	2 L	100.0 mL	2,900.0 mL	3 L
33.3 mL	866.7 mL	1 L																	
66.6 mL	1,933.4 mL	2 L																	
100.0 mL	2,900.0 mL	3 L																	
33.3 mL	866.7 mL	1 L																	
66.6 mL	1,933.4 mL	2 L																	
100.0 mL	2,900.0 mL	3 L																	
<p>Volúmenes para reactivos listos para usarse</p> <p>Reactivo de detección 1 y de detección 2</p>	<p>MEZCLA/REACTIVO ANTES DE SU USO:</p> <p>Mezcle el reactivo completamente, posteriormente mida de forma cuidadosa el volumen apropiado del reactivo de detección 1 ó reactivo de detección 2 en un reservorio de reactivo limpio siguiendo los lineamientos mostrados a continuación. Para evitar una contaminación, NO DEBE reaprovechar estos reactivos; a las botellas originales deséchelas al momento de su uso. Si no se está usando una placa de ocho canales, puede sustituirse una placa monocanal adecuada. En este caso, deberán hacerse partes alícuotas del reactivo en un tubo de polipropileno de sólidos tamaño para soportar el volumen requerido, como se indica a continuación.</p> <table border="1" data-bbox="287 403 510 851"> <tr> <td>No. de alícuotas:</td> <td>96/12</td> <td>Contenedor de la botella</td> </tr> <tr> <td></td> <td>72/9</td> <td>7.0 mL</td> </tr> <tr> <td></td> <td>48/6</td> <td>5.0 mL</td> </tr> <tr> <td></td> <td>24/3</td> <td>3.0 mL</td> </tr> <tr> <td></td> <td>1 prueba</td> <td>0.125 mL</td> </tr> </table>	No. de alícuotas:	96/12	Contenedor de la botella		72/9	7.0 mL		48/6	5.0 mL		24/3	3.0 mL		1 prueba	0.125 mL			
No. de alícuotas:	96/12	Contenedor de la botella																	
	72/9	7.0 mL																	
	48/6	5.0 mL																	
	24/3	3.0 mL																	
	1 prueba	0.125 mL																	

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA M N 9483
DT - TECNOLAB S.A.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE ESPECÍMENES

Los especímenes cervicales recolectados y transportados usando el dispositivo de recolección de ADN digene HC2 (conjunto cervical y medio de transporte de especímenes digene) o el kit de recolección de especímenes con hisopo vaginal digene HC (hisopo Digene) y medio de transporte de especímenes digene) son los únicos especímenes recomendados para su uso con la prueba de ADN digene HC2 CTGC. No se han calificado los especímenes tomados con otros dispositivos de muestreo o transportados en otros medios de transporte para su uso con este ensayo. Se establecieron las características de desempeño de este kit solamente con los dos kits de recolección indicados. Deben recordarse los especímenes cervicales antes de la aplicación de ácido acético o yodo si se está realizando un examen colposcópico.

Pueden retirarse los especímenes por hasta dos semanas a temperatura ambiente y embarcarse sin refrigeración al laboratorio de análisis. Deben etiquetarse los especímenes en un contenedor estanco usando ya sea un proveedor de paquetería de un día para otro o de dos días. En el laboratorio de análisis, deben conservarse los especímenes a 2-8° C si debe realizarse el ensayo dentro de una semana. Si se realiza el ensayo después de una semana, conserve los especímenes a -20° C por hasta 3 meses. Tenga que almacenar un conservador al medio de transporte de especímenes digene para retrasar el crecimiento bacteriano y retener la integridad del ADN. No está indicado para conservar la viabilidad de organismos o células. No pueden usarse los especímenes recolectados en el medio de transporte de especímenes digene para el cultivo u otros métodos de prueba.

La estabilidad de especímenes por dos semanas a temperatura ambiente, más una semana adicional a 2-8° C se basa en pruebas internas de 90 especímenes clínicos simulados. Estos 90 especímenes incluyeron 40 que contienen bajas concentraciones de organismo de CTGC (en o casi el límite de detección [LOD] del ensayo), 40 que fueron especímenes moderadamente positivos (aproximadamente 2.5 veces el LOD), 3 especímenes positivos altos que exceden 10 veces el LOD, y 2 especímenes que eran infecciones duales. Los 5 especímenes resistentes eran negativos para CT y GC. Se basan los estimados del desempeño para el ensayo en especímenes conservados a 2-8° C o congelados y probados dentro de 1-2 semanas de recolección.

Notas:

1. Un parte alícuota no desnaturalizada de cada uno de estos 90 especímenes estuvo sujeto a temperaturas extremas indicadas para simular las condiciones de embarque (conservación a -20° C por 3 días, posteriormente a 50° C por 5 días, y 2 semanas adicionales a temperatura ambiente). Aunque se observó una pérdida de señal (URLCO) después de 8 días en estas condiciones, no se afectó la interpretación cualitativa de los resultados. Después de la hibridación de dos semanas conteniendo bajas niveles del organismo, se observaron diferencias cualitativas con especímenes que contenían bajos niveles del organismo.
2. Para prevenir que las tapas se zafen de los especímenes que son embarcados o almacenados congelados:
 - Cierre las tapas con Parafilm antes de embarcar los especímenes previamente congelados.
 - Pueden embarcarse los especímenes congelados o a 15-30° C.
3. No debe usarse el dispositivo de recolección de ADN digene HC2 para mujeres embarazadas. Recólecte los especímenes de mujeres encintas usando el kit de recolección de especímenes con hisopo vaginal digene HC solamente.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Los especímenes pueden contener agentes infecciosos y deberán manejarse como corresponde. Puede realizarse manualmente la prueba de ADN digene HC2 CT/GC como se indica en estas instrucciones de uso o usando el sistema Rapid Capture para pruebas de producción de muestras de alto volumen.

Pruebas de producción de muestras de alto volumen usando la aplicación RCS

El sistema Rapid Capture es un sistema de pipeteo y dilución automatizado de uso general que puede usarse con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC para pruebas de producción de muestras de alto volumen. Este sistema maneja hasta 352 especímenes en ocho horas, reduciendo un periodo de 3-5 horas durante el cual no se requiere la intervención del usuario, pueden generarse hasta 704 resultados de especímenes en 13 horas. Se realiza la desnaturalización de los especímenes en preparación para pruebas retrospectivamente del RCS, en el tubo de recolección primario, como se hizo para el método manual de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC descrita más adelante, antes de colocarse en la plataforma de RCS. Además, se realizan la detección de señales quimioluminiscentes y el reporte de resultados usando el sistema de luminómetros fuera de línea común para el método manual como de RCS. Cada una de las etapas de procesamiento de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC se realiza en la secuencia exacta como el procedimiento de prueba manual. La aplicación de RCS permite el procesamiento escalonado de hasta 4 microplacas, cada placa conteniendo especímenes y los calibradores y controles de calidad del ensayo requeridos. Ya que son iguales los controles requeridos para la prueba de ADN digene HC2 CT/GC y las etapas de procesamiento, puede realizarse el ensayo manualmente como se describe en la siguiente sección.

Cuando use el sistema Rapid Capture, remítase a la Guía de usuario del sistema Rapid Capture proporcionada con el instrumento, además de estas instrucciones de uso, para información de procedimiento y descripción necesaria.

Método manual

Preparación

1. Deje que se equilibre 60 minutos el calibrador de microplacas a 65 ± 2° C de una incubadora. Véase el Manual del operador del calibrador de microplacas / para detalles. Confirme que un baño de agua a 65° C y que el nivel de agua está lo suficientemente alto para sumergir todo el volumen en los tubos de ensayo.
2. Quite los recipientes y todas las reactivas requeridos del refrigerador antes de comenzar el ensayo. Dejelos que alcancen 20-25° C por 15 a 30 minutos.
3. Use el software de análisis de ensayo digene con los protocolos del ensayo digene para CT/GC para crear la distribución de placas del ensayo. Consulte la guía de usuario del software de análisis de ensayo digene para detalles.
4. Deben prepararse fresco el calibrador negativo, el calibrador positivo y los controles de calidad para cada corrida. Mezcle los calibradores y controles de calidad bien. Si usa el Vortexer de tubos multiespecímenes, quite 500 µL de cada uno de los tubos de recolección de especímenes varios apropiadamente etiquetados. De forma alternativa, quite 200 µL de cada uno a los tubos de microcentrifuga de polipropileno de 2 mL apropiadamente etiquetados.
5. Quite y deseché las tapas de los calibradores, controles de calidad y especímenes a probar. Deben estar etiquetados el calibrador negativo y los calibradores positivos por triplicado para cada lote de especímenes probados. Deben producirse uno por uno los controles de calidad y especímenes. Deben correrse los calibradores, controles de calidad y especímenes en una configuración de columna de 8 microplacas, de tal forma que los duplicados del calibrador negativo (NC) sean colocados en A1, B1, C1, el calibrador positivo (PC) en D1, E1, F1, CT de QC en G1, GC de QC en H1, posteriormente los especímenes comenzando en A2. Véase la distribución de ejemplo a continuación. Consulte la Guía de usuario del software de análisis de ensayo digene aplicable para la preparación apropiada de calibradores/especímenes en el software.
6. Las tapas removidas de los tubos con especímenes son consideradas potencialmente infecciosas. Deséchelas de conformidad con la normatividad nacional/local.

MARISOL MASINO
BIODIAGNOSTICA M.N. 9483
BIOTECNOLOGIA S.A.

DISTRIBUCIÓN DE EJEMPLO PARA UNA CORRIENDA DE 24 MICROPLACAS

File	Columna		
	1	2	3
A	NC	Espec. 1	Espec. 9
B	NC	Espec. 2	Espec. 10
C	NC	Espec. 3	Espec. 11
D	PC	Espec. 4	Espec. 12
E	PC	Espec. 5	Espec. 13
F	PC	Espec. 6	Espec. 14
G	CT de QC	Espec. 7	Espec. 15
H	GC de QC	Espec. 8	Espec. 16

Nota: el software de análisis de ensayo digene evaluará tanto los resultados del calibrador como del control de calidad con base en su ubicación en la placa para verificar la corrida del ensayo. La colocación apropiada de los calibradores y controles de calidad y la selección del protocolo de software apropiado son esenciales para resultados válidos.

Desnaturalización

Notas:

- Advert: el reactivo de desnaturalización es corrosivo, use ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos. Tenga cuidado y use guantes limpios de polvo cuando maneje el reactivo; algunos especímenes pueden contener sangre u otro material biológico que puede causar los virus de color en la solución del reactivo de desnaturalización. Los especímenes que puedan mostrar un color oscuro antes de la adición del reactivo de desnaturalización pueden dar los virus apropiados de color en estas etapas. En estos casos, no mostrar el virus apropiado de color no afectará los resultados del ensayo. Puede verificarse la mezcla apropiada observando los virus de color de los calibradores y controles de calidad.
- No quite el dispositivo de recolección de especímenes antes de la desnaturalización.
- Durante la etapa de desnaturalización, asegúrese de que el nivel de agua en el baño maría sea adecuado para sumergir todo el volumen de espécimen en el tubo.
- Pueden prepararse los especímenes hasta la etapa de desnaturalización y almacenarse a 2-8° C de un día para otro, o almacenarse a 20° C por hasta tres meses. Puede realizarse un máximo de tres ciclos de congelación-descongelación. Mezcle bien antes de su uso.
- Pueden prepararse los calibradores y controles de calidad hasta la etapa de desnaturalización y almacenarse a 2-8° C de un día para otro, pero no pueden congelarse. Si se han congelado los calibradores y controles de calidad, deben descongelarse.
- Para evitar resultados falsos positivos, es crítico que todo calibrador, control de calidad y material de espécimen se ponga en contacto con el reactivo de desnaturalización. La mezcla después de la adición del reactivo de desnaturalización es una etapa crítica; asegúrese de que el Vortexer de tubos multiespecímenes esté puesto a 100 (velocidad máxima) y se observe un virchito visible de líquido durante la mezcla de tal forma que el líquido lave toda la superficie interna del tubo. Si se realiza la verificación manual, asegúrese de que cada calibrador, control de calidad y espécimen de muestra de forma individual por virchito cada uno durante por lo menos 5 segundos a velocidad máxima de tal forma de que el virchito de líquido lave toda la superficie interna del tubo seguido de una inversión del tubo una vez.
- Después de la desnaturalización e incubación, ya no se consideran infecciosos los especímenes. Sin embargo, aun el personal del laboratorio deberá acatar las precauciones nucleares/biológicas.
- Quite y deseché las tapas de los calibradores, controles de calidad y tubos de especímenes.
- Pipeteo el reactivo de desnaturalización con cuidado indicado en cada calibrador, control de calidad o espécimen usando una pipeta respiratoria o ajustable. Tenga cuidado en no tocar los recipientes del tubo o ports cuando una contaminación cruzada de los especímenes. El volumen de reactivo de desnaturalización necesario es equivalente a la mitad del volumen de espécimen. Se lista el volumen exacto para cada tipo de calibrador, control de calidad y espécimen en la tabla a continuación.

• Diluya el reactivo de desnaturalización remanente en la botella antes de desechar de acuerdo con los procedimientos de laboratorio nacionales/locales.

Calibrador, control de calidad, espécimen	Volumen del reactivo de desnaturalización requerido
Control de calidad, 200 µL	100 µL
Calibrador positivo, 500 µL	250 µL
Calibrador negativo y positivo, 200 µL	100 µL
Calibrador negativo y positivo, 500 µL	250 µL
Especimen clínico, 1 mL	500 µL

3 Mezcle los especímenes usando uno de los dos métodos a continuación

Método de Vertedor de Tubos Multiespecímenes

- Cubra los tubos de calibrador/control de calidad/especímenes con película selladora de tubo DuranSeal sellando la película sobre los tubos en la gradilla.
- Coloque la tapa de la gradilla sobre los tubos cubiertos con película y asegúrela en su lugar con los dos clips laterales. Corte la película con el dispositivo de corte.
- Ponga la gradilla en el Vertedor de tubos multiespecímenes y asegure la gradilla con la abrazadera. Verifique que la configuración de velocidad esté a 100 (máxima velocidad) y que el interruptor del Vertedor a la posición de «on» (preñado). Coloque en vertical los tubos por 10 segundos.

Método de colocación en vórtice de tubos manual/individual

- Vuelva a poner la tapa a los tubos de calibradores, controles de calidad y especímenes con tapa Mezcle cada tubo completamente colocando en vórtice de forma individual, en alta velocidad, por 5 segundos.
- Invierta cada tubo con especímenes una vez para lavar la parte interna del tubo, tapa y borde.
- Regrese el tubo a la gradilla.
- Independiente del método de vórtice utilizado, debe haber un vórtice visible de líquido dentro de cada tubo durante la mezcla de las formas que el líquido tiene toda la superficie interna del tubo. Deberán tornarse purpuras los calibradores, controles de calidad y especímenes. Troce los tubos en la gradilla en un baño maría a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos (puede probarse los calibradores, controles de calidad y especímenes desnaturalizados inmediatamente, o almacenarse como se describe en las Notas anteriores). Prepare la mezcla de sondas de CT/CG durante esta incubación. Véase la sección Preparación y almacenamiento de reactivos.

Hibridación

Notas:

- La mezcla de sondas de CT/CG es viscosa. Deberá tenerse cuidado para asegurar una mezcla completa y que la cantidad requerida se disperse completamente en cada micropozo de la placa. Véase la sección Preparación y almacenamiento de reactivos.
- Si se ha conservado el espécimen desnaturalizado a -20° C, entonces permita que se descongele el espécimen a 20-25° C, y coloque el vórtice completamente el espécimen antes de seguir con la hibridación.
- Previamente al calentador de microplacas a 65 ± 2° C por 60 minutos antes de su uso. Véase el Manual del operador del calentador de microplacas / para más instrucciones, como sea necesario.
- Quite y etiquete una microplaca de hibridación.
- Quite los calibradores, controles de calidad y especímenes del baño maría después de la incubación. Si se está usando el Vertedor de tubos multiespecímenes, coloque en vórtice toda la gradilla por lo menos 5 segundos en la configuración de máxima velocidad. De forma alternativa, coloque en vórtice cada tubo individualmente durante por lo menos 5 segundos.
- Píjelos 75 µL de cada calibrador, control de calidad o espécimen en el fondo del micropozo de hibridación siguiendo la plantilla creada bajo Preparación. Evite tocar los costados de los pozos y limite la formación de burbujas de aire. Use una punta para pipeta extralarga y limpie para cada

transferencia para evitar una contaminación cruzada de los calibradores, controles de calidad o especímenes. No es necesario quitar el dispositivo de recolección de especímenes del tubo de transporte de especímenes. Pueden cubrirse los especímenes desnaturalizados con tapa moza para tubos de recolección de especímenes y almacenarse con dispositivos de recolección de especímenes que quedan en los tubos.

Notas:

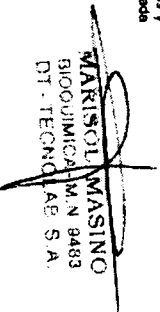
- Puede ocurrir resultado falso positivo si no se pasan cuidadosamente las puntas alfileres de los especímenes. Durante la transferencia del espécimen, no toque la punta para pipeta hacia dentro del tubo cuando quite la punta alfileres de 75 µL.
 - Importante: algunos especímenes pueden contener sangre u otro material biológico que pueda manchar los virajes de color en la sección de la mezcla de sondas. Los especímenes que muestran un color oscuro antes de la sección del reactivo de desnaturalización pueden no dar los virajes de color apropiados en esas etapas. En estos casos, no mostrar el viraje de color apropiado no atribuya los resultados del ensayo. Puede verificarse la mezcla apropiada observando los virajes de color de los calibradores y controles de calidad.
 - Después de pasar el último espécimen, cubra con Parafilm o tapa para placa, e invierta la microplaca de hibridación por 10 minutos a 28-25° C.
 - Déjela en partes silicadas la mezcla de sondas preparada y puesta completamente en vórtice en un reservorio de reactivos desechable. Proteja cuidadosamente 25 µL de la mezcla de sondas en cada pozo que contiene los calibradores, controles de calidad y especímenes usando una pipeta de otro creanes y puntas frescas para cada fila. Dispense el volumen de sonda en cada pozo de hibridación, previniendo una supercarga de reagentes. Evite tocar los costados de los pozos. Inspeccione la gradilla desde abajo para verificar que todos los pozos hayan recibido la cantidad apropiada de la mezcla de sondas.
 - Para esta etapa, debe usarse una pipeta de otro canales capaz de suministrar 25 µL - 75 µL. Y equípela con puntas de 25 µL - 200 µL.
 - Cubra la microplaca de hibridación con una tapa para placas. Agite la microplaca de hibridación en el agitador giratorio del sistema Hybrid Capture usando a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Los calibradores, controles de calidad y especímenes deberán tornarse amarillos después de la agitación. Los pozos que quedan purpuras pueden no haber recibido la cantidad apropiada de la mezcla de sondas. Agítelos 25 µL adicionales de la mezcla de sondas a los especímenes que quedan purpuras y agite otra vez. Si los pozos quedan purpuras después de seguir este procedimiento, deberán volverse a probar los especímenes.
 - Trabaje en un calentador de microplacas / precalentado y equilibrado a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos.
- Nota:** Cuando coloque la microplaca de hibridación en el calentador de microplacas 1, deberá tenerse cuidado en no causar una supercarga.

Hybrid Capture (captura híbrida)

- Quite todo, excepto el número requerido de micropozos de captura desde el marco de la placa. Regrese los micropozos no usados a la botella original y vuelva a sellar. Con un marcador, enumere cada columna 1, 2, 3, y etiquete la microplaca con un identificador apropiado. Se indican los especímenes a los pozos de acuerdo con la distribución de ejemplo mostrada e continuación y/o la plantilla previamente preparada bajo Preparación.

DISTRIBUCIÓN DE EJEMPLO PARA UNA CORRIENDA DE 24 MICROPOZOS:

Fila	1	2	3
A	NC	NC	Especc. 9
B	NC	NC	Especc. 10
C	NC	NC	Especc. 11
D	PC	PC	Especc. 12
E	PC	PC	Especc. 13
F	PC	PC	Especc. 14
G	CT de QC	Especc. 7	Especc. 15
H	QC de QC	Especc. 8	Especc. 16



- Quite cuidadosamente la microplaca de hibridación que contiene los calibradores, controle de calidad y especímenes del calentador de microplacas. Quite inmediatamente la tapa para placas y colóquela en una superficie limpia.
- Pase todo el contenido (aproximadamente 100 µL) de los calibradores, controles de calidad y especímenes de los micropocitos de hibridación al fondo del micro pocito de la pipeta de ocho canales usando una pipeta de ocho canales. Use puntas para pipeta nuevas en la pipeta de ocho canales para cada columna transferida, y deje que se drene cada punta para pipeta bien para asegurar una transferencia completa de espécimen. Si desea, puede aflojarse la pipeta desaccionando la mitad de las puntas para pipetas en el borde superior de los micro pocitos de captura (véase el diagrama 1).

DIAGRAMA 1: PIPETADO CORRECTO



- Cubra la microplaca con la tapa para placas y agite en el agitador giratorio 1 a 1100 + 100 rpm, a 20-25 °C por 60 ± 5 minutos.
- Durante esta incubación, prepare la solución amortiguadora de lavado y, si aplica, verifique el lavador de placas automatizado, y los reservorios de enjuague y de residuos. Véase la sección Preparación y almacenamiento de reactivos.
- Cuando esté completa la etapa de captura, quite la microplaca de captura desde el agitador giratorio 1 y quite cuidadosamente la tapa para placas. Quite el líquido de los pocitos desechando en un fregadero. Frente completamente la placa sobre el fregadero y agite fuertemente con un movimiento descendente siendo cuidadoso en no causar una salpicadura de reagentes desechando de forma cercana al fondo del fregadero. No vuelva a invertir la placa; seque dando golpes secos firmes 2-3 veces en las toallas Kimwipes Wipers o toallas de papel con poca pelusa equivalentes limpias. Asegúrese de que el líquido sea removido de los pocitos y que la parte superior de la placa está seca.

Hybrid Detection (detección híbrida)

Notas:

- Prepares las adiciones a través de la placa en una dirección de izquierda a derecha, usando una pipeta de ocho canales.
 - Se recomienda que se utilice la técnica de pipeteado reverso para mejorar la consistencia de suministro del reactivo. Con esta técnica, se sobretienen inicialmente las puntas para pipeta usando el segundo para en control de aspiración/dispensado de la pipeta (embolo). Véase el procedimiento a continuación. Limpie las puntas en el reservorio de reactivo o en una almohadilla con poca pelusa y limpie para quitar el exceso de reactivo antes de suministrar la placa.
 - Si se desea, puede aflojarse la pipeta desaccionando la mitad de las puntas de la pipeta en el borde superior de los micro pocitos. Tenga cuidado en no tocar los costados de los micro pocitos para evitar una contaminación cruzada de especímenes. Remítase al diagrama 1 mostrado anteriormente.
- Divida en partes alíquotar el volumen apropiado del reactivo de detección 1 en un reservorio de residuos (véase la sección Preparación y almacenamiento de reactivos para instrucciones). Pipete cuidadosamente 75 µL del reactivo de detección 1 en cada pocito de la microplaca de captura usando una pipeta de ocho canales y la técnica de pipeteado reverso descrita anteriormente. Verifique que se hayan llenado de forma exacta todos los pocitos observando la intensidad del color rosado. Todos los pocitos deberían tener una intensidad similar.
 - Técnica de pipeteado reverso.
 - Inserte las puntas en la pipeta de ocho canales, asegúrese de que se sienten firmemente todas las puntas.
 - Empuje el embolo de la pipeta pasado el primer para el segundo para.
 - Sumerja las puntas en la solución del reactivo de detección 1.
 - Libre el embolo lentamente y deje que la solución las puntas.

MARISOL MASINO
RIOQUIMICA M.N. 9483
DT. TECNOL. LAB. S.A.

- Dispense la solución en los micro pocitos (75 µL), presionando el embolo al primer para. No libere el embolo hasta que se hayan vuelto a surtir las puntas de la pipeta en la solución del reactivo de detección 1.
- Vuelva a limpiar las puntas y repita hasta que se llenen todos los pocitos. Use los pocitos de las microplacas de izquierda a derecha. Verifique que se hayan llenado de forma exacta todos los pocitos observando la intensidad del color rosado. Todos los pocitos deberían tener una intensidad similar.

Lavado

Lave la placa de captura usando uno de los dos métodos a continuación.

Método de lavador de placas automatizado.

Nota: Siempre mantenga prendido el lavador de placas automatizado. Asegúrese de que el reservorio de enjuague está lleno y que el reservorio residual está vacío. El lavador de placas automatizado enjuague de forma robótica el sistema para su limpieza. Véase el Manual del operador del lavador de placas automatizado para más instrucciones, como sea necesario.

ANTES DE CADA USO:

- Verifique que el reservorio de lavado está lleno por lo menos hasta la marca de 1 L. Si no, prepare la solución amortiguadora de lavado. Véase la sección Preparación y almacenamiento de reactivos.
- Verifique que el reservorio residual está vacío y que la tapa está apretada de nuevo a segura.
- El lavador de placas automatizado automáticamente inclina todo antes de cada lavado y enjuague después de cada lavado.

- Quite la tapa para placas y coloque la placa en la plataforma del lavador de placas automatizado.
- Verifique que el interruptor está prendido y que la pantalla lee «Dygene Wash Ready» (lavado dygene listo) o «P1».
- Nota: Si solamente se está usando una tira parcial de pocitos de captura, necesitarán colocarse micro pocitos vacíos en la placa de captura para completar la columna antes del lavado. Véase la sección Accesorios para información de pacifidos.
- Seleccione el número de tiras a lavar presionando la tecla «Rows» (filas) y posteriormente «+» o «-» para ajustar. Presione la tecla «Rows» para regresar a «Dygene Wash Ready» (lavado dygene listo) o «P1».
- Presione «Start/Stop» (iniciar/parar) para comenzar.
- El lavador de placas automatizado realizará seis ciclos de lavado y aspirado, formándose aproximadamente 10 minutos. Haga una pausa breve durante el programa, por lo que asegúrese en no quitar la placa de forma prematura. Cuando el lavador de placas automatizado termine de lavar, lea «Dygene Wash Ready» (lavado dygene listo) o «P1».
- Quite la microplaca del lavador cuando se termine el programa. La placa deberá aparecer blanca, y no deberá permanecer líquido rosado residual en los micro pocitos.

Método manual de lavado:

Nota: Un lavado inadecuado puede causar un fondo incrementado y resultados sesos positivos (debido a la fosfata alcalina residual). Para asegurar un lavado eficiente usando el aparato de lavado, colóquelo por lo menos 61 cm y no más de 91 cm por encima del área de lavado, de tal forma que la placa esté entre 61 cm y 91 cm por debajo del aparato de lavado cuando se está lavando. El control del aparato de lavado deberá girarse a la posición de «open» (abierto) completamente cuando este en uso y colocarse en la posición de «off» (apagado) cuando no está en uso. Durante el uso, el aparato de lavado debe contener por lo menos 1.0 L de solución amortiguadora de lavado para asegurar una presión adecuada.

- Quite el reactivo de detección 1 de los pocitos colocando toallas Kimwipes Wipers o toallas de papel con poca pelusa equivalentes limpias en la parte superior de la placa e invirtiéndolas cuidadosamente. Antes de invertir, asegúrese de que el papel está en contacto con toda el área superficial de la placa.

1. Deje que se drene la placa por 1-2 minutos. Sequa el pozo en toallas Kimwipes o toallas de papel con poca presión equivalente a limpiar. Deseeche cuidadosamente las toallas de papel con poca presión usadas para evitar la contaminación con toallas acilinas de las etapas posteriores.
2. Usando el aparato de lavado, lávese manualmente la placa seis veces. Se lava cada pozo a sobrealujo para quitar el conjugado de las partes superiores de los pozos. El lavado comienza en el pozo A1 y continúa de un modo sucesivo hacia la derecha y abajo. Después de que se hayan lavado todos los pozos, decante el líquido en el fregadero con un movimiento hacia abajo fuerte. Se realiza el segundo lavado en el pozo H12 haciendo en un movimiento sucesivo hacia la izquierda y arriba. Esta secuencia de dos lavados se repite dos veces más para un total de seis lavados por pozo.
3. Después del lavado, seque la placa enjuagando en las toallas Kimwipes blancas o toallas de papel con poca presión equivalentes limpias y dando golpecitos firmes 3-4 veces. Sustituya las toallas de papel con poca presión y seque otra vez. Deje la placa mojada y déjela que se drene por 5 minutos. Sequa la placa una vez más.
4. La placa deberá aparecer blanca y ningún líquido residual rosado deberá quedar en los micropozos.

Amplificación de señales

Notas:

- Use un nuevo par de guantes limpios de polio para manejar el reactivo de detección 2.
- Dada en partes aliquadas solamente la cantidad de reactivo requerida para realizar el ensayo en el reservorio de reactivos con el fin de evitar una contaminación del reactivo de detección 2. Vase la sección Preparación y almacenamiento de reactivos. NO regrese el reactivo de detección 2 a la botella original. Deseeche el material no usado después de su uso.
- Deberá hacerse la adición del reactivo de detección 2 sin interrupción. El tiempo de producción de todos los pozos debe ser lo más cercano posible.
 - Tiempo cubierto en no tocar los costados del micropozo ni aspirar el reactivo de regreso a las puntas porque podría ocurrir una contaminación cruzada de especímenes (véase el diagrama 1).
- 1. Pítese cuidadosamente 75 µl del reactivo de detección 2 en cada pozo de la microplaca de captura usando una pipeta de ocho canales y la técnica de pipeteo correcto, como se describió previamente. Todos los micropozos deberán tornarse de un color amarillo. Verifique que todos los pozos se hayan llenado de manera exacta observando la intensidad del color. Todos los pozos deberán tener una intensidad similar.
- 2. Cubra la microplaca con una tapa para placas o Parafilm limpo (o equivalente) e incuba a 20-25°C por 15 minutos. Evite la luz solar directa.
- 3. Lea la microplaca en el laboratorio después de 15 minutos de producción (y no más de 30 minutos de producción).
- 4. Si no se usó una microplaca limpia, quite los micropozos usados del soporte de microplacas; enjuague el soporte completamente con agua destilada o desionizada, seque y reserve para el siguiente ensayo.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA M.N 9483
DT - TECNOLOGIA S.A.

CRITERIOS DE VERIFICACIÓN DE CALIBRACIÓN DE ENSAYOS

Se realiza la verificación de calibración de ensayos para asegurar que los reactivos y el material suministrado del calibrador y de control de calidad están funcionando de forma apropiada permitiendo una determinación exacta del valor de corte del ensayo. Los criterios de verificación son: calibrador y verificados adecuadamente válidos o inválidos por el software de análisis de ensayos digene. La prueba de ADN digene HCG CT/IGC requiere calibración con cada corrida. Por lo tanto, es necesario verificar cada corrida usando los siguientes criterios. Este procedimiento de verificación no está indicado como sustituto para las pruebas de control de calidad internas.

1. **Calibrador negativo**
Debe correrse el calibrador negativo por triplicado con cada corrida de prueba. El valor de URL promedio del calibrador negativo debe ser ≥ 10 y ≤ 150 URL con el fin de proceder. El coeficiente de variación (%CV) para los duplicados del calibrador negativo deberá ser $\leq 25\%$. Si el %CV es $> 25\%$, recalculará el promedio y %CV usando los dos duplicados restantes. El %CV recalculado deberá ser $\leq 25\%$; de lo contrario, la verificación de calibración del ensayo es inválida, y debe repetirse la corrida de la prueba para todos los especímenes del paciente. Por consiguiente, los resultados de los especímenes del paciente no deberán reportarse.
2. **Calibrador positivo**
Debe correrse el calibrador positivo por triplicado con cada corrida de la prueba. El %CV para los duplicados del calibrador positivo deberá ser $\leq 20\%$. Si el %CV es $> 20\%$, el software desactivará el duplicado con el valor de URL más lejano del promedio como un marginal, y recalculará el promedio y %CV usando los dos duplicados restantes. El %CV recalculado deberá ser $\leq 20\%$; de lo contrario, la verificación de calibración del ensayo es inválida, y debe repetirse la corrida de la prueba para todos los especímenes del paciente. Por consiguiente, no deberán reportarse los resultados de los especímenes del paciente.
3. **Razón de FC promedio/NC promedio**
Se usará el promedio de los duplicados del calibrador positivo (FC promedio) y el promedio de los duplicados del calibrador negativo (NC promedio) para calcular la razón de FC promedio/NC promedio. El software calculará la razón de FC promedio/NC promedio. Esta razón debe cumplir los siguientes criterios para verificar la calibración del ensayo antes de que puedan interpretarse los resultados de los especímenes. Si la razón es ≥ 2.0 y ≤ 20 , el software procederá al cálculo del corte. Si la razón es < 2.0 o > 20 , la calibración del ensayo es inválida y debe repetirse. Deberán repetirse todos los especímenes del paciente dentro de la corrida.

Notas: Para determinar la reproducibilidad del calibrador y control de calidad para la prueba de ADN digene HCG CT/IGC, se completaron los resultados generados con el instrumento del laboratorio de microplacas 2000 digene (DM1, 2000) durante los estudios internos que involucraban 545 corridas de prueba usando la aplicación del sistema Rapid Capture y 182 corridas de prueba usando el método manual (véase la tabla 1). Los resultados mostraron que el %CV promedio para el calibrador positivo para estas 827 corridas era igual o inferior al 6.9% y el %CV promedio para el calibrador negativo (NC) era igual o inferior al 15.2%. Aunque se obtuvo un valor del calibrador negativo promedio de URL promedio de 361 para una corrida de RCS, el umbral de URL promedio para el calibrador negativo se ha definido como 250 URL, con base en un cálculo estadístico de $\pm 3SD$ del valor de URL promedio para el calibrador negativo. El extremo superior de este rango de $\pm 3SD$ se entendió un 20% adicional para asegurar que el umbral de URL de NC pueda lograrse en la práctica clínica rutinaria.

Deberá observarse de forma rutinaria el valor de URL promedio del calibrador negativo en $\pm 10\%$ a ± 150 y el CV $\leq 25\%$. Cada laboratorio deberá monitorear el desempeño del control de calidad y de la calibración de acuerdo con el documento CLSI/NCCLS C24-2A de Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. El URL promedio que usa la aplicación de RCS para acceder consistentemente (80, posiblemente con una reducción correspondiente en el PC/NC), la cual, de acuerdo con la tabla 1, se ha demostrado que produce un valor promedio en la calibración de 6.8. En este caso, los resultados son aceptables dado que el URL de NC queda menor o igual a 250 y la razón de FC/NC es mayor o igual a 2.0 y ≤ 20 . Si el URL de NC excede 250 o PC/NC caer por debajo de 2.0 o por encima de 20, el ensayo es inválido.

CONTROL DE CALIDAD

Se suministran los especímenes de control de calidad con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC. Consulte la guía de usuario del software de análisis de ensayos digene para instrucciones sobre cómo capturar los números de lote y las fechas de caducidad de los controles de calidad. Debe incluirse estos controles en cada corrida de prueba, y el URLCO de cada control de calidad debe caer dentro de los siguientes rangos aceptables para la corrida de pruebas a considerar válida. Si los controles de calidad no caen dentro de estos rangos, el ensayo es inválido y debe repetirse. Por consiguiente, no deberán reportarse los resultados de pacientes para ninguna corrida inválida.

	CT de QC	GC de QC	Calibrador negativo
URLCO mínimo	1,00	1,00	0
URLCO máximo	20,00	20,00	0,9999
%CV máximo	20,00	20,00	25,00

- Los controles de calidad proporcionados en este kit son blancos de ADN donado de CT y GC compuestos de la misma construcción genética para cada organismo individual (uno para CT y uno para GC) como es el calibrador positivo proporcionado de ADN digene HC2 CT/GC. Como es recomendado por Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS (documento C24-A2 de CLSI/NCCLS), el calibrador positivo contiene una concentración distinta (5 veces más baja) de ADN blanco para asegurar que el procedimiento de control de calidad proporcione una valoración independiente de desempeño.
- Este material de control no es igual al organismo de CT o GC en la matriz de especímenes y no actuará como un control apropiado para el procesamiento del medio de transporte de especímenes digene.
- Se usa el calibrador positivo para normalizar los resultados de los especímenes estableciendo el corte para cada corrida del ensayo. Deben usarse los controles proporcionados con este kit para control de calidad interno. Pueden probarse los controles adicionales de acuerdo con los lineamientos o requerimientos de la normatividad local, estatal y/o del país o las organizaciones acreditadoras.
- Para probar la efectividad de la lista y desnaturalización de los especímenes, los laboratorios deberán realizar periódicamente las siguientes funciones de control de preparación de especímenes para ambos organismos detectados por el ensayo:
 - Para *Chlamydia trachomatis*:
 - Añadirse > 100.000 cuerpos elementales de *Chlamydia trachomatis* (serovares E o J recombinados y disponibles de ATCC, como ATCC VR-3488 y ATCC VR-896, respectivamente) a un tubo fresco de STM. Incluye durante por lo menos una hora antes de analizar de la misma forma que un espécimen clínico normal. Deberá obtenerse una razón de URLCO de 2 a 1,00 si se procesa apropiadamente el espécimen.
 - Se han establecido rangos aceptables para los calibradores y controles de calidad solamente para luminómetros aprobados por QIAAGEN. El calibrador negativo y los controles positivos monitorizan por una falta sustancial de reactivo y no asegurarán la precisión del corte del ensayo.
 - Para *Neisseria gonorrhoeae*:
 - Agregar > 5.000 UFC/ml de *Neisseria gonorrhoeae* (suaviones 1, 5 o cara de tipo recombinada y disponible de ATCC como ATCC 27932, ATCC 27629 y ATCC 18424, respectivamente) a un tubo fresco de STM. Incluye durante por lo menos 1 hora antes de analizar de la misma forma que un espécimen clínico normal. Deberá obtenerse una razón de URLCO de 2 a 1,00 si se procesa apropiadamente el espécimen.
 - Se han establecido rangos aceptables para los calibradores y controles de calidad solamente para luminómetros aprobados por QIAAGEN. El calibrador negativo y los controles positivos monitorizan por una falta sustancial de reactivo y no asegurarán la precisión del corte del ensayo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ESPECÍMENES

- Los especímenes con razones del valor de URLCorte < 1,00 no contienen ADN de *Chlamydia trachomatis* o de *Neisseria gonorrhoeae* o contienen niveles de ADN por debajo del límite de detección del ensayo. Estos deberán interpretarse y reportarse como «No *Chlamydia trachomatis* o *Neisseria gonorrhoeae* ADN detectado». (sin ADN de *Chlamydia trachomatis* o *Neisseria gonorrhoeae* detectado). Un resultado negativo no excluye la infección con *Chlamydia trachomatis* o *Neisseria gonorrhoeae* porque los resultados dependen de la recolección adecuada de especímenes y el ADN suficiente a detectar.
- Los especímenes con razones de valor de URLCorte ≥ 1,00 son considerados «positivos para el ADN del *Chlamydia trachomatis* y/o *Neisseria gonorrhoeae*». Cuando se obtiene un resultado positivo con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, son necesarias pruebas de seguimiento del mismo espécimen usando la prueba de ADN digene HC2 CT-ID y/o la prueba de ADN digene HC2 GC-ID para verificar el resultado positivo e identificar el ADN del organismo específico presente en el espécimen. Deberán realizarse pruebas una vez con cada una de las pruebas de ID. Deberán interpretarse los resultados de prueba como sigue:
 - A través de la cribra de la prueba de ADN digene HC2 CT-ID:
 - Los especímenes con las razones de valor de URLCorte ≥ 1,00 son considerados «positivos para el ADN de *Chlamydia trachomatis*».
 - Los especímenes con razones del valor de URLCorte < 1,00 no contienen ADN de *Chlamydia trachomatis* o contienen ADN por debajo del límite de detección del ensayo. Estos deberán interpretarse como «No *Chlamydia trachomatis* ADN detectado» (sin ADN detectado de *Chlamydia trachomatis*).
 - A través de los criterios de la prueba de ADN digene HC2 GC-ID:
 - Los especímenes con razones del valor de URLCorte de ≥ 1,00 son considerados «positivos para el ADN de *Neisseria gonorrhoeae*».
 - Los especímenes con razones de valor de URLCorte < 1,00 no contienen ADN de *Neisseria gonorrhoeae* o contienen ADN por debajo del límite de detección del ensayo. Estos deberán interpretarse como «No *Neisseria gonorrhoeae* ADN detectado» (sin ADN detectado de *Neisseria gonorrhoeae*).
- Deberán reportarse los especímenes encontrados positivos por la prueba de ADN digene HC2 CT/GC que son determinados a ser negativos después de pruebas TANTO con la prueba de ADN digene HC2 CT-ID como digene HC2 GC-ID como «No *Chlamydia trachomatis* o *Neisseria gonorrhoeae* ADN detectado» (sin ADN detectado de *Chlamydia trachomatis* o *Neisseria gonorrhoeae*). (ver la tabla 2 a continuación).
- Cuando se utilice ya sea la prueba de ADN digene HC2 CT-ID o la prueba de ADN digene HC2 GC-ID sin realizar pruebas iniciales con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, se recomienda volver a probar para especímenes que generen resultados ambiguos y sean interpretados como supuestos positivos, como es indicado en el inserto del producto para cada una de esas pruebas de ADN digene HC2. No está designada ninguna zona para cada una de esas pruebas de ADN digene HC2. No está designada ninguna zona para cada una de esas pruebas de ADN digene HC2 CT/GC. Por lo tanto, NO se requiere volver a probar el resultado ambiguo cuando se utilice la prueba de ADN digene HC2 CT/GC porque los especímenes que prueban ser positivos por este ensayo son verificados subsecuentemente para contener ya sea ADN de CT o de GC por las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID o digene HC2 GC-ID.

Tabla 2. Algoritmo de verificación de la prueba de ID de pruebas repetidas.

Resultado inicial de la prueba de ADN digene HC2 CT-GC	Resultado de la prueba de ADN digene HC2 CT-ID repetida	Resultado de la prueba de ADN digene HC2 GC-ID repetida	Interpretación del resultado final
POS (> 1.0 URLCO)	POS	POS	Positiva para ADN de CT y GC para ADN de GC
	NEG	NEG	Positiva para ADN de GC, no para ADN de CT
	NEG	NEG	Negativa para ADN de CT y GC
NEG (< 1.0 URLCO)	NA	NA	Negativa para ADN de CT y GC

7. Se recomienda que los resultados positivos sean verificados por otro método si la probabilidad de infección con *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae* es incierta o cuestionada. Los estudios analíticos con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC han mostrado reactividad cruzada a otras ciertas secuencias de ADN que pueden causar un resultado falso positivo. Estas secuencias de ADN incluyen los plásmidos pBR322, pGEM® 3Z y pGEM 3Z(+), y los organismos *Chlamydia psittaci*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa* y *Neisseria circumae*. Véase la sección Especificidad analítica para información adicional.

MARISOL MASINO
RIOQUIMICA S.A.
DT. TECNOL. S.A.
M.N. 9483

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Remítase a la Guía de usuario del sistema Rapid Capture para limitaciones adicionales del procedimiento específicas para el uso de ese sistema para pruebas de producción de muestras de alto volumen.

1. para uso de dispositivo *in vitro* solamente;
2. Deben seguirse de manera cuidadosa el procedimiento, control de calidad y la interpretación de los resultados de los especímenes de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC para obtener resultados de prueba confiables.
3. Es importante pipetear el volumen exacto de reactivo indicado y mezclar bien después de cada adición de reactivo. No hacerlo podría dar como resultado resultados de prueba erróneos. Asegurarse de que ocurren los virajes de color notados ayudará a confirmar que estas condiciones se han cumplido.
4. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección con *Chlamydia trachomatis*. *Neisseria gonorrhoeae* porque niveles muy bajos de infecciones o el error de muestreo pueden causar un resultado falso negativo.
5. Solememente puede usarse la prueba de ADN digene HC2 CT/GC con especímenes cervicales recolectados usando el dispositivo de recolección de ADN digene HC2 y colocados en STM o con especímenes cervicales recolectados con el kit de recolección de especímenes con hisopo vaginal digene HC y colocados en STM.
6. No deberá usarse el dispositivo de recolección de ADN digene HC2 para la recolección de especímenes de mujeres embarazadas. Para las mujeres encintas, deberán recolectarse los especímenes cervicales usando el kit de recolección de especímenes con hisopo vaginal digene HC.
7. Deberán interpretarse los resultados de esta prueba solamente en conjunción con información disponible de la evaluación clínica del paciente y de otros procedimientos.
8. La prueba de ADN digene HC2 CT/GC proporciona resultados cualitativos. No se ha demostrado que el valor numérico (razón) por encima del valor de corte determinado para el espécimen de la paciente se correlacione con la cantidad de ADN de CT o de GC presente en el espécimen de la paciente.
9. Resultados confiables son dependientes de la recolección adecuada de especímenes. Ya que el sistema de transporte usado para este ensayo no permite una valoración microscópica de la adecuación del espécimen, es necesario la capacitación de los técnicos en técnicas apropiadas de recolección de especímenes. Para asegurar la recuperación óptima de las células epiteliales de la columna alineando la endocervix, deberá quitarse el exceso de moco antes de la recolección de especímenes, como se describe en los procedimientos del dispositivo de recolección de ADN digene HC2 y del kit de recolección de especímenes con hisopo vaginal digene HC.
10. La detección de *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis* es dependiente del número de organismos presentes en el espécimen y pueden ser afectados por los métodos de recolección de especímenes, los factores de la paciente, la etapa de infección y/o la cepa de *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis*.
11. La prueba de ADN digene HC2 CT/GC no está indicada para la evaluación de abuso sexual sospechoso o para otras indicaciones medicológicas. Se recomiendan pruebas adicionales en cualquier circunstancia cuando resultados falsos positivos o falsos negativos pudiesen conducir a consecuencias médicas, sociales o psicológicas adversas.
12. Deberá considerarse el cultivo para la confirmación y se requiere para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana genotípica y la resistencia para indicaciones medicológicas.
13. Como se aplica para todos los métodos sin cultivo, no puede interpretarse un espécimen positivo como indicador de la presencia de *Chlamydia trachomatis* y/o *Neisseria gonorrhoeae* viables.
14. Todavía no se han establecido los parámetros necesarios para determinar el éxito o fracaso terapéuticos para la prueba de ADN digene HC2 CT/GC.

15. No se ha demostrado la habilidad de la prueba de ADN digene HC2 CT-ID y la prueba de ADN digene HC2 GC-ID para verificar los especímenes prueba de ADN digene HC2 CT/GC positivos con un número suficiente de especímenes recolectados con un hisopo Dacron, como se comparó con los especímenes recolectados con el dispositivo de recolección de ADN digene HC2. Ya que el uso del dispositivo de recolección de ADN digene HC2 está contraindicado en la recolección de especímenes cervicales de mujeres embarazadas, puede reducirse el valor predictivo en esta subpoblación de pacientes.
16. Además de la sangre completa total humana, solamente se probaron una ducha vaginal, crema antifúngica y jala autoconcoctiva comerciales para la interferencia del ensayo. Se probaron todas las sustancias en 5% v/v. No se han determinado los efectos de otras sustancias exógenas. En general, deberá evaluarse la presencia de sustancias exógenas ya que pueden interferir con los resultados de prueba exactos.
17. La prevalencia de la infección en una población puede afectar el desempeño de cualquier ensayo de diagnóstico cuando se prueban las poblaciones con baja prevalencia o individuos sin riesgo de infección. En poblaciones de prevalencia baja, la tasa (falsa positiva de cualquier prueba de diagnóstico sencilla puede exceder la tasa verdadera positiva para que el valor predictivo de una prueba positiva sea muy bajo. Ya que algunas pacientes que están verdaderamente infectadas no serán identificadas probando un solo espécimen para cultivo, no puede determinarse la tasa verdadera de falsos positivos o asumirse de estos datos clínicos.
18. Se recomienda que los resultados positivos sean confirmados por otro método si la probabilidad de infección con *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis* es incierta o cuestionada. Los estudios analíticos con esta prueba han mostrado una reactividad cruzada a pBR332 y otras secuencias de ADN específicas, lo cual puede causar un resultado falso positivo. Aunque no se ha validado completamente la frecuencia con la cual pBR332 y otras secuencias de ADN se encuentran en especímenes genitales, solamente el 0.09% de todos los específicos prueba de ADN digene HC2 CT/GC positivos fue identificado como positivamente falso positivo debido a secuencias reactivas cruzadas relacionadas con pBR332. Esta población representativa puede no reflejar la frecuencia de ocurrencia de pBR332 en todas las poblaciones probadas. También se ha demostrado que la prueba de ADN digene HC2 CT/GC reacciona con *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria curvata* y *Neisseria mucosa*. Estos organismos pueden ser componentes comunes de la flora de la garganta normal. Evite contaminar los reactivos y los especímenes de la paciente con aerosoles respiratorios. No se aislan comúnmente estas secuencias del organismo de los especímenes del tracto genital y, por lo tanto, deberán causar en raras ocasiones una mala interpretación de un resultado clínico. Todos los especímenes positivos con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC que también son positivos con la prueba de ADN digene HC2 GC-ID pueden no necesariamente ser debido a una infección con *Neisseria gonorrhoeae*. Aunque la prueba de ADN digene HC2 CT/GC tiene el potencial de reaccionar de forma cruzada con *Chlamydia psittaci*, pBR332, pGEM1 y varias especies de *Neisseria commensalis*, es remota la probabilidad de estos organismos que afecten la interpretación de la prueba, como se demostró por los resultados del estudio clínico multicéntrico. ^{20, 21, 22} La detección de *Neisseria gonorrhoeae* es dependiente del número de organismos presentes en el espécimen y pueden ser afectados por los métodos de recolección de especímenes, los factores de la paciente (sexo es, edad, historia de STD [enfermedad sexualmente transmissible], presencia de síntomas), etapa de infección y/o cepa infectadora de *Neisseria gonorrhoeae*, o la presencia de *Neisseria* no gonocócica con ADN homólogo. Véase la sección *Especificidad analítica* para información adicional.
19. Con el fin de minimizar la variabilidad de los resultados obtenidos con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, es necesario que el personal del laboratorio que realiza el ensayo logre un nivel aceptable de competencia técnica. Cada laboratorio también debe monitorear la competencia técnica con el ensayo. Para lograr esto, se sugiere que los paneles de prueba de especímenes comercialmente disponibles que contengan el organismo de CT y GC o el ADN de CT y GC sean probados en una frecuencia consistente con los requisitos de CLIA.
20. Ya que la prueba de ADN digene HC2 CT/GC es un ensayo diseñado para detectar la presencia combinada de *Chlamydia trachomatis* y/o *Neisseria gonorrhoeae*, y existe la posibilidad de una infección dual, se necesitan pruebas de seguimiento de los especímenes prueba de ADN digene HC2 CT/GC positivos con ensayos individuales de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*.
21. Solamente se ha validado la prueba de ADN digene HC2 CT/GC para su uso con el lavador de placas automatizado usando las configuraciones especificadas en las instrucciones del ensayo. Se condigo este estado de validación internamente, y los datos para soportar su uso se encuentran en archivo en QIAGEN. No son aceptables otros lavadores de placas u otras configuraciones de lavadores de placas para su uso con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC.

RESULTADOS ESPERADOS

Prevalencia:

Las tasas de positividad observadas entre la población de estudio clínica para Chlamydia trachomatis y Neisseria gonorrhoeae cuando se ven colectivamente usando la prueba de ADN digene HC2 CT/GC. Son del 1,7% al 22,7% (véase la tabla 3). Los datos en la tabla 3 representan el número de pacientes de los cuales el ADN de CT y el ADN de GC, y tanto el ADN de CT como de GC (contratados) fueron detectados y el porcentaje verificado como positivo a través de volver a probar los especímenes iniciales pruebas de ADN digene HC2 CT/GC positivos con las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID. Los datos de las tasas de positividad proporcionados son estadificados por tipo de análisis y la presencia o ausencia de síntomas observados en la paciente de la cual se recolectaron los especímenes. Entre las pacientes sintomáticas, los lugares 1 a 3 demostraron una tasa más alta de positividad tanto para la infección CT como con GC (> 5%) como se compara con los lugares 4 y 5. La verificación observada en las tasas de positividad cuando se determina la presencia de Chlamydia trachomatis y/o Neisseria gonorrhoeae es influida por las características de la población, tales como la edad y los factores de riesgo.

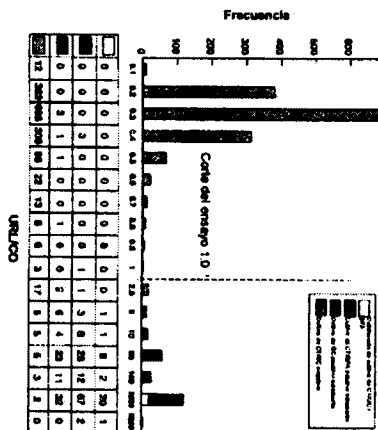
Tabla 3. Tasas de positividad que usan la prueba de ADN digene HC2 CT/GC y el sistema de verificación de las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID.

Lugar de prueba	n	CT-ID positivo solamente		GC-ID positivo solamente		CT-ID y GC-ID positivos (contratados)		CT-ID y/o GC-ID positivos	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Sintomática									
1	336	36	10,1	28	8,1	11	3,1	76	21,2
2	278	17	6,1	17	6,1	9	3,2	43	15,4
3	223	30	13,5	12	5,4	4	1,8	46	20,6
4	182	7	4,3	4	2,5	0	0,0	7	4,8
5	152	7	4,6	0	0,0	0	0,0	7	4,6
Totales	1174	87	8,3	62	6,3	24	2,9	183	14,8
Asintomática									
1	102	5	4,9	5	5,8	4	3,8	15	14,7
2	22	1	4,5	1	18,2	0	0,0	5	22,7
3	63	3	3,6	1	1,2	0	0,0	4	4,8
4	4	2	22,7	10	4,4	4	1,8	14	6,2
5	177	2	1,1	1	0,6	0	0,0	3	1,7
Totales	419	21	3,4	16	2,6	4	0,7	41	6,7
Total	1785	118	6,8	78	4,4	28	1,6	253	14,2

Distribución de la frecuencia: resultados de URLCO de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC

Se indica a continuación la distribución de las razones de URLCO de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC observadas durante el estudio clínico multicéntrico (véase la Ilustración 1). Estos datos incluyen todos los especímenes para los cuales se realizaron los análisis con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC y los resultados del cultivo confirmados (cultivo de CT y GC y DFA) estuvieron disponibles (n = 1785). No se interpretan estos resultados usando los resultados de prueba de seguimiento de la prueba de ADN digene HC2 CT-ID y la prueba de ADN digene HC2 GC-ID, como es definido en la sección Interpretación de los resultados de los especímenes de este inserto. Por lo tanto, esta distribución de la frecuencia representa los resultados de prueba iniciales obtenidos con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, donde se interpretaron todos los especímenes con un a razón de URLCO ≥ 1,00 como positivos y aquellos con una razón de URLCO < 1,00 se interpretaron como negativos.

Ilustración 1. Distribución de la frecuencia de los resultados de CT/GC de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC.



Se observa una separación distributiva de las razones de URLCO entre los resultados prueba de ADN digene HC2 CT/GC positivos y negativos. Aproximadamente el 98% (87,9%, 1488/1520) de los resultados prueba de ADN digene HC2 CT/GC negativos caen por debajo del 0,6. Se distribuyen los 32 resultados negativos restantes entre 0,7 y 1,00. Diez especímenes cultivo positivos caen por debajo del corte de 1,00, el porcentaje más grande los cuales se distribuyen entre 0,7 y 0,5. Noventa y dos por ciento (245/265) de los resultados prueba de ADN digene HC2 CT/GC positivos están en exceso de un valor de URLCO de 2,5, con solamente 20 de los 265 especímenes positivos (8%) cayendo entre 1,00 y 2,50.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA M N 9483
DT - TECNOLAB S.A.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Detección de los organismos individualmente por pruebas iniciales con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC

Se determinaron las características de desempeño de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC comparando los resultados del ensayo con los resultados del cultivo de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria meningitidis* en DF-A. De los cinco lugares distintos (incluyendo STD, planeación familiar y clínicas obstetrigineológicas), se recolectaron 1785 especímenes de pacientes y se probaron más tarde. Se realizaron pruebas de DFA en el sedimento del medio de transporte de cultivos de CT después de la centrifugación para especímenes que eran prueba de ADN digene HC2 CT/GC positiva/cultivo negativo. Se determinaron los resultados de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC mostrados a continuación en la tabla 4 utilizando la prueba de ADN digene HC2 CT/GC sola para cada uno de los organismos especificados. Los especímenes mostrados por cultivo/DFA a infectar tanto con organismos de CT como de GC se analizaron de forma separada y se presentaron a continuación como especímenes con infección dual. Los estratos de desempeño mostrados no están en consideración los resultados obtenidos en las pruebas de la prueba de ADN digene HC2 CT-ID y la prueba de ADN digene HC2 GC-ID.

Como se ve en la tabla 4 y se muestra previamente en la ilustración 1, se observó un total de 37 especímenes como positivos por pruebas iniciales de CT/GC y negativos por ambos cultivos de CT y GC. Entre estas 37 especímenes (los cuales todos tenían valores de URUGO > 1.00), se determinó que 13 eran reacción en cadena de polimerasa (PCR) de CT como de GC. No se realizaron pruebas de PCR en los especímenes restantes. Por lo tanto, en general, se demostró que el 51.4% (19/37) de estos especímenes contenían ya sea ADN de CT o de GC. No se Ademas, estos 19 especímenes fueron probados todos de acuerdo con el algoritmo de verificación de la prueba de ID y se encontró que contenían ya sea ADN de CT y/o de GC con la prueba de ADN digene HC2 CT-ID y la prueba de ADN digene HC2 GC-ID.

Tabla 4. Resumen de la habilidad de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC sola para detectar organismos individuales.

Cultivo de <i>Chlamydia trachomatis</i> y <i>Neisseria meningitidis</i> negativo	Resultado de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC		Sensibilidad del estrato de desempeño (IC del 95%)
	POS	NEG	
Cultivo de <i>Chlamydia trachomatis</i> /DFA positivo solo	123	119	98.75% (91.9 - 99.1)
Cultivo de <i>Neisseria meningitidis</i> positivo solo	84	78	82.86% (65.1 - 97.3)
Infección dual (cultivo de CT y GC positivo)	31	31	100.00% (88.8 - 100)
			95.80% (92.4 - 98.0)
Total positivo	238	228	97.61% (96.7 - 98.3)

Verificación de los resultados prueba de ADN digene positivos con las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID

Para los propósitos del resumen presentado en la tabla 5, se utilizaron los resultados de la prueba de ADN digene HC2 CT-ID y prueba de ADN digene HC2 GC-ID. Los resultados están resumidos principalmente por los resultados obtenidos inicialmente con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC y especificados más por los resultados obtenidos en pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID. La tabla 5 se separa sobre los datos presentados en la tabla 4, mostrando la distribución de los resultados de las pruebas ADN digene HC2 CT/GC, CT-ID, y GC-ID obtenidos para especímenes en el estudio clínico encontrado positivo para el cultivo de CT solo (123), el cultivo de GC solo (84), los especímenes controlados (31), y los especímenes encontrados negativos tanto por el cultivo de CT como de GC (1547). Se han combinado los datos presentados para todos los lugares de investigación, los dispositivos de recolección utilizados y las categorías de serología (pacientes sintomáticas y asintomáticas) del estudio clínico.

Tabla 5. Resumen de los resultados de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, datos de las pacientes sintomáticas y asintomáticas combinados para todos los lugares de investigación.

Resultados del cultivo	Sensibilidad y especificidad del sistema de verificación de las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID				Total
	CT/GC	CT/GC	CT/GC	CT/GC	
CT/GC positivos					
CT-ID positivos (solamente)	2	115	0	15	132
GC-ID positivos (solamente)	1	0	75	9	85
CT-ID y GC-ID positivos	28	3	2	2	35
CT-ID y GC-ID negativos	0	1	0	1	12
Total	31	119	78	37	265
CT/GC negativos					
CT-ID positivos (solamente)	0	1	0	8	9
GC-ID positivos (solamente)	0	0	0	10	10
CT-ID y GC-ID positivos	0	0	0	0	0
CT-ID y GC-ID negativos	0	4	6	1482	1501
Total (tanto CT/GC pos como neg)	31	123	84	1510	1785

Estimados del desempeño - Sensibilidad y especificidad del sistema de verificación de las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID

Se presenta a continuación un resumen del desempeño de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC cuando se usa en combinación con la prueba de ADN digene HC2 CT-ID y la prueba de ADN digene HC2 GC-ID. Para estos análisis, todos los especímenes que probaron ser positivos por la prueba de ADN digene HC2 CT/GC se probaron más tarde con las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID y se interpretaron los resultados de acuerdo con el algoritmo de la prueba definido en la sección Interpretación de los resultados de los especímenes. Se refiere a este algoritmo de pruebas como el «Sistema de verificación de ID». A través de esta definición, los especímenes que fueron prueba de ADN digene HC2 CT/GC positivos y negativos por ambos pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID se interpretaron como negativos. Pueden encontrarse los estratos de sensibilidad para los sistemas de verificación de las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID en la tabla 6 y pueden encontrarse los estratos de la especificidad para ambos sistemas en la tabla 7. Se analizaron de manera separada los especímenes controlados utilizando ambos sistemas para que está delineado claramente el desempeño cuando se prueban estos tipos de especímenes. En general, los estratos de sensibilidad para la identificación de los especímenes reñados con GC son inferiores en comparación con reñados al cultivo de CT y GC, los cuales comúnmente tienen sensibilidades del 80-85% para CT y 70-90% para GC.

Tabla 6. Características de desempeño de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC versus el cultivo de CT y GC utilizando el sistema de verificación de pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID.

Estrato de la sensibilidad - Datos de las pacientes sintomáticas y asintomáticas combinadas para todos los lugares de investigación.	Pruebas		Número infectado 2	Sensibilidad (IC del 95%)
	Positivo	Negativo		
Sistema de verificación de las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID				
Todo CT infectado	148	154	154	80.10%
Infección de CT sola	118	123	123	85.93%
Controlada	30	31	31	96.77%
Sistema de verificación de las pruebas de ADN digene HC2 GC-ID				
Todo GC infectado	107	115	115	93.04%
Infección de GC sola	78	84	84	92.86%
Controlada	29	31	31	93.55%

1 Resultado positivo como se determinó utilizando el sistema de verificación de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC. Como se define en la sección Interpretación de los resultados de estas instrucciones de uso.

2 Como se determinó por el cultivo de CT, DFA y/o el cultivo de GC.

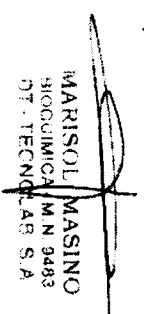


Tabla 7. Características de desempeño de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, versus el cultivo de CT y de GC utilizando el sistema de verificación de pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID. Estimado de la especificidad - Datos de pacientes sintomáticas y asintomáticas combinados para todos los lugares de investigación.

Prueba	Población	Resultado negativo		Especificidad (Intervalo de confianza del 95%)	Resultados de las pruebas de PCR 1	
		CT/GC	Cultivo 2		CT Pos	GC Pos
Sistema de verificación de ADN digene HC2 CT-ID	1530	1631	1547	98.77% (98.1-99.3)	13/14	0/2
Sistema de verificación de ADN digene HC2 GC-ID	81	84	98.43% (89.9-99.3)	2/3	N/A	
Sistema de verificación de ADN digene HC2 CT-ID	1530	1631	1547	98.77% (98.1-99.3)	13/14	0/2
Sistema de verificación de ADN digene HC2 GC-ID	81	84	98.43% (89.9-99.3)	2/3	N/A	

1 Como se determinó utilizando el sistema de verificación de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, como se define en la sección Interpretación de los resultados de estas instituciones de uso.
 2 Como se determinó por el cultivo de CT, DF, A, y/o cultivo de GC.
 3 Se proporcionó esta información para información solamente, no se recibieron los resultados de los especímenes usando la PCR. No seccionaron separadas los resultados de las pruebas de PCR para todos los especímenes. Estos datos representan los resultados de las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y 4 resultados de las pruebas de ADN digene HC2 GC-ID.

De los 31 especímenes con resultados positivos por cultivo, la prueba de ADN digene HC2 CT/GC fue positiva para los 31. Verificación de estos fueron identificados por ambas pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID en la segunda prueba para ADN digene de CT y GC. Para dos de los tres especímenes con resultados negativos, se detectó solamente el ADN de CT cuando se probaba con los ensayos de ID (la prueba de ADN digene HC2 GC-ID fue negativa). En el último espécimen, se detectó solamente el ADN de GC (la prueba de ADN digene HC2 CT-ID fue negativa para este espécimen). Véase la sección Especificaciones con respecto a continuación para más detalles.

También se comparó la especificidad general para el sistema de verificación de las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID, es decir, el 96% para ambos sistemas, como se muestra en la tabla 8. La tabla 8 también contiene información de las pruebas de PCR de CT y GC para especímenes que se encontraron positivos por el sistema de verificación de ID y negativos por el método de cultivo correspondiente. Se muestra la información de la PCR para fines informativos solamente; no se usaron los resultados de la PCR para resolver los resultados de prueba obtenidos con el sistema de pruebas de ADN digene HC2 CT/GC. Especifico para los resultados de prueba obtenidos con el sistema de pruebas de ADN digene HC2 CT-ID, 15/20, o el 75% de los resultados falsos positivos aparentes fueron determinados por PCR para ADN de CT, dos fueron PCR negativos y uno, no se probaron por PCR. De forma similar, para el sistema de verificación de pruebas de ADN digene HC2 GC-ID, el 50% (7/14) de los resultados de GC fueron positivos aparentes. Lo determinó por PCR para ADN de ADN de GC. De los 1754 especímenes de estudio clínico que se determinó que no estaban confeitados, menos del 0.5% (8/1754) fue identificado por las pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID para ADN de CT como de GC. Cinco de estos ocho especímenes fueron probados por PCR, y se encontró que cuatro contenían ADN de CT, y se encontró que uno contenía ADN de GC (véase la sección Especificaciones con respecto a continuación para más detalles).

Las tablas 8 y 9 representan el desempeño del sistema de verificación de pruebas de ADN digene HC2 CT-ID y GC-ID estratificado por lugar de prueba. La tabla 8 muestra los estimados de sensibilidad versus el cultivo de CT y GC y la tabla 9 los estimados de especificidad versus el cultivo de CT y GC. Además del desempeño del lugar de pruebas agrupados en dos categorías amplias que reflejan las características de las poblaciones de pacientes probadas: Se refieren estas amplias categorías como lugares de alta de sensibilidad alta y lugares de alta de sensibilidad baja. La población registrada en los lugares de alta de sensibilidad alta estaba compuesta principalmente de pacientes que asistían a clínicas STD (de enfermedades sexualmente transmitidas) e incluían los lugares 1, 2 y 3. Esto representó la proporción más alta de pacientes sintomáticas observadas en estos tres lugares, como se comparó con las pacientes asintomáticas (véase la tabla 3). A la inversa, los lugares 4 y 5, definidos colectivamente como lugares de alta de sensibilidad baja, tenían una proporción más alta de pacientes asintomáticas. Las pacientes en estas poblaciones eran ya sea de clínicas gineco-obstétricas o estaban

asistiendo a clínicas en el momento del registro en el estudio clínico por razones consideradas como relacionadas con la gineco-obstétrica o rutinarias por naturaleza.

Tabla 8. Estimados de sensibilidad de las características de desempeño del sistema de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC estratificados por lugar de pruebas.

Intervalo de confianza del 95%	Lugar	n	Sistema de verificación de pruebas de ADN digene HC2 CT-ID		Sistema de verificación de pruebas de ADN digene HC2 GC-ID	
			Todo CT de CT-ID	Intervalo de confianza del 95%	Todo GC de GC-ID	Intervalo de confianza del 95%
Intervalo de confianza del 95%	1	440	85.44 (57/61)	81.3-88.6	94.12 (18/17)	90.0-100
Intervalo de confianza del 95%	2	301	98.5 (28/28)	94.74 (18/19)	100 (20/20)	94.00 (21/25)
Intervalo de confianza del 95%	3	308	97.37 (37/38)	91.0-99.8	100 (44)	92.88 (23/24)
Intervalo de confianza del 95%	4	348	80.75 (22/28)	84.7-93.9	93.8-100	88.89 (8/9)
Intervalo de confianza del 95%	5	329	100 (8/9)	100 (17/17)	100 (11)	100 (11)
Intervalo de confianza del 95%	Todos	1785	88.10% (144/164)	86.5-90.7	93.77% (80/85)	92.88% (72/76)

MARISOL MASINO
 BIQUINICA LAB S.A.
 DT-TECNO

Tabla 9. Estimados de la especificidad de las características del desempeño del sistema de la prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC estratificados por lugar de pruebas.

Lugar	n	Sistema de verificación de pruebas de ADN dígnere HC2 CT-ID		Sistema de verificación de pruebas de ADN dígnere HC2 GC-ID	
		Intervención de CT	Intervención de GC	Intervención de CT	Intervención de GC
1	480	98.00 (98/00)	98.30 (98/30)	98.17 (98/17)	98.30 (98/30)
Intervención de confianza del 95%		97.5-98.7	97.2-98.7	97.2-98.8	97.2-98.7
2	301	97.08 (284/272)	97.57 (291/247)	92.00 (23/25)	98.57 (284/287)
Intervención de confianza del 95%		94.3-98.7	94.8-98.1	74.0-99.0	98.7-99.8
3	308	98.88 (282/285)	98.21 (272/274)	92.86 (13/14)	98.98 (282/286)
Intervención de confianza del 95%		98.5-99.8	97.2-99.9	88.1-99.8	97.0-99.8
4	389	98.92 (388/372)	98.90 (389/383)	100 (9/9)	99.47 (378/380)
Intervención de confianza del 95%		97.3-98.7	97.2-98.7	88.4-100	98.1-99.8
5	328	98.69 (319/320)	99.88 (318/319)	100 (1/1)	99.70 (327/328)
Intervención de confianza del 95%		98.3-100	98.3-100	2.5-100	98.3-100
Lugares de bases de datos de confiabilidad alta	1, 2, 3	98.40 (92/93)	98.61 (95/96)	95.95 (71/74)	98.88 (96/97)
Intervención de confianza del 95%		97.4-98.1	97.6-98.3	88.6-99.2	98.0-99.4
6	718	98.28 (68/782)	98.27 (67/782)	100 (10/10)	98.98 (702/706)
Lugares de confiabilidad baja	4, 5	98.3-98.8	98.3-99.8	89.2-100	98.8-99.8
Intervención de confianza del 95%		98.1-98.3	98.1-98.3	88.4-99.8	98.9-100
Todos	1788	98.77% (1811/1831)	98.90% (1818/1831)	98.43% (1818/1831)	99.18% (1828/1831)
Intervención de confianza del 95%		98.3-99.3	98.3-99.3	88.5-99.3	98.7-99.5

Especificidades concluidas

Tenida y un espécimen fueron confectados y determinados por cultivo de CT/DFA y cultivo de GC. Aunque no es evidente de las tablas 6, 6, 7, se detectó el ADN de CT o GC en los 31 de estos especímenes confectados con la prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC. De los 31 especímenes prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC positivos, 28 (90%) fueron verificados por ambas pruebas de ADN dígnere HC2 CT-ID y GC-ID para confirmar ADN de CT y GC como se indicó previamente, dejando solamente tres especímenes (10%) que no fueron detectados de pacientes con infecciones dúples. La prueba de ADN dígnere HC2 CT-ID detectó dos de estos tres especímenes confectados y la prueba de ADN dígnere HC2 GC-ID detectó uno de los especímenes confectados.

A la inversa, solamente ocho especímenes identificados como positivos por las tres pruebas de ADN dígnere HC2 no fueron verificados por cultivo o DFA para confirmar ambos organismos. Esto incluyó solamente dos especímenes que eran negativos por ambos cultivos de CT y GC. No obstante, uno de los especímenes (especimen 1 en la tabla 10) fue positivo para ADN de CT por PCR. Si se tienen en consideración los resultados de la prueba PCR, esto reduce el número de especímenes confectados del sistema de la prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC no confirmado a cinco.

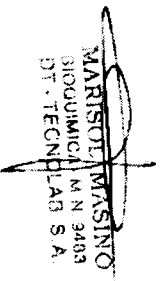


Tabla 10. Especímenes positivos por las tres pruebas de ADN dígnere HC2 y no confirmados como confectados con ADN de CT y GC por cultivo de CT/DFA y cultivo de GC (n=8).

No.	DFA de cultivo de CT	Cultivo de GC	Resultados de PCR	
			CT	GC
1	NEG	NEG	POS	NEG
2	NEG	NEG	NEG	NEG
3	NEG	POS	POS	NO
4	NEG	NEG	NEG	NO
5	POS	POS	POS	NO
6	POS	POS	POS	NEG
7	POS	NEG	NEG	POS
8	POS	POS	NEG	NO

Reproducibilidad
Como parte del estudio clínico multicéntrico, se realizó un estudio de reproducibilidad para determinar la reproducibilidad corrida por corrida, día por día, lugar por lugar y total de la prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC usando un panel compuesto de los blancos de ADN Chlamydia trachomatis y Neisseria gonorrhoeae y los especímenes clínicos prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC positivos y prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC negativos.

Se probó un panel de 10 miembros de especímenes ocultos, clínicos y no clínicos desnaturalizados (ADN), consistente en ocho especímenes positivos (que contienen CT y GC) y dos especímenes negativos, en replicados de seis, dos veces al día, por un período de tres días, en cada uno de cuatro lugares (tres lugares externos y DIACEN). Cada lugar generó 36 pares de datos para cada blanco probado. Se desnaturalizaron todos los especímenes y se almacenaron congelados antes de las pruebas. Se observó una concordancia del cien por ciento para los 1152 resultados positivos esperados (1152/1152). En general, la concordancia fue del 100% para los 288 resultados negativos esperados (288/288). En general, la concordancia fue del 100% (1440/1440), con un intervalo de confianza del 95% de 99.7-100 y kappa = 1.00. No hubo una veracidad corrida por corrida, día por día o lugar por lugar observada, por lo tanto, se combinaron los datos de todas las corridas en cada lugar y se presentaron a continuación (Tabla 11).

Tabla 11. Reproducibilidad de la prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC en un estado multicéntrico

Blanco	Lugar 1		Lugar 2		Lugar 3		Lugar 4		Lugar 5	
	URU	Concord	URU	Concord	URU	Concord	URU	Concord	URU	Observ
Blanco	CO	en %	CO	en %	CO	en %	CO	en %	CO	Esperado
Bajo	3,5	100	3,1	100	3,1	100	4,1	100	3,5	144/144
Alto	6,7	100	6,3	100	6,0	100	6,1	100	6,8	144/144
Alto	38,2	100	31,5	100	30,8	100	42,1	100	35,2	144/144
Alto	65,7	100	59,2	100	67,2	100	78,8	100	64,9	144/144
Especímenes clínicos	3,2	100	3,0	100	2,8	100	3,7	100	3,2	144/144
Bajo	1,0	100	1,1	100	1,0	100	1,0	100	1,0	144/144
Alto	16,9	100	14,5	100	14,3	100	19,8	100	16,0	144/144
Alto	21,1	100	18,5	100	17,5	100	20,2	100	20,2	144/144
Alto	0,3	100	0,3	100	0,2	100	0,2	100	0,3	144/144
Alto	0,3	100	0,3	100	0,2	100	0,2	100	0,3	144/144
TOTAL	0,3	100	0,3	100	0,2	100	0,2	100	0,3	1440/1440

Se condujo un segundo estudio de confiabilidad/reproducibilidad usando todo el organismo de *Neisseria gonorrhoeae* y/o *Chlamydia trachomatis* adicionado en una matriz de especímenes clínicos simulados de células epiteliales en tres lugares externos. Cada panel incluyó especímenes en o casi el límite de detección para cuatro cepas, especímenes positivos de nivel medio, en o casi el límite de detección que contenía sangre total, y especímenes positivos tanto para GC como para CT en una concentración bajísima y aleatoria. Se esperaba que doce especímenes fueran positivos y se esperaba que 13 especímenes fuesen negativos. Se muestra la concordancia porcentual entre los resultados observados y esperados de la prueba de ADN dígnere HC2 CT/GC en los tres lugares de prueba individuales y para todos los lugares combinados en la tabla 12.

Tabla 12. Concordancia porcentual de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC por lugar.

Lugar	Observada vs. esperada	Concordancia porcentual*
1	25/25	100.0% (96.28%-100%)
2	25/25*	100.0% (96.28%-100%)
3	24/25*	96.0% (79.65%-99.90%)
Lugares combinados	74/75	98.7% (95.20%-100%)

*Las pruebas de ADN digene HC2 CT/GC se realizaron en los laboratorios de referencia de cada lugar. El resultado de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC se comparó con el resultado de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC. La concordancia general fue del 98.7% (Ic95% = 0.973) para las pruebas a través de los tres lugares. Cuando se usó el algoritmo de confirmación de ID, la concordancia fue del 100% (Ic95% = 1.0).

En pruebas de competencia rutinarias, se identificaron 12 especímenes ambiguos (los cuales contenían todas las concentraciones de organismo de CT u organismo de GC) y se interpretaron los resultados de acuerdo con la sección Interpretación de los resultados de estas pruebas de uso como positivos. Por lo tanto, el ensayo ha demostrado la habilidad de detectar el ADN de CT y/o GC en especímenes con concentraciones de organismo detectables en o casi al límite de detección del ensayo. Se observó una evidencia adicional de esto cuando se probó a un panel disponible que contenía especímenes con bajas numeraciones de organismos en un rango indicado a detectar por ensayos de amplificación de ácidos nucleicos. Las pruebas en tres lugares externos produjeron resultados 100% positivos para los especímenes en el panel que contenía organismo de CT y/o GC (véase la tabla 13).

Tabla 13. Resultados del panel de especímenes de CT y GC.

Lugar	No. del espécimen	URLCO	Interpretación	Resultado esperado
1	1	3.82	POS	POS
	2	14.13	POS	POS
	3	15.16	POS	POS
	4	15.04	POS	POS
	5	0.20	NEG	NEG
2	1	2.37	POS	POS
	2	10.27	POS	POS
	3	9.27	POS	POS
	4	8.94	POS	POS
	5	0.11	NEG	NEG
3	1	1.50	POS	POS
	2	13.34	POS	POS
	3	8.37	POS	POS
	4	15.42	POS	POS
	5	0.17	NEG	NEG

Precisión
Se realizó un estudio de precisión en tres lugares para determinar la precisión intracuerpo y total de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC usando un panel de especímenes clínicos simulados, ocultos positivos y negativos. Además, se valoró la precisión intra e interinstrumentos observada con dos luminómetros separados usando el mismo panel. Los dos modelos de luminómetros incluyeron el instrumento DML 2000, el cual es uno de los luminómetros aprobados por QIAGEN recomendados para su uso con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, y el instrumento MLX, el cual es uno de los modelos de luminómetro usado durante la evaluación clínica que ya no está disponible.

Se muestran los resultados de precisión para los lugares combinados en la tabla 14. Los resultados cuantitativos en los dos lugares estuvieron 100% en concordancia con los resultados esperados (94.54, 93.4%, 100% IC del 85%).

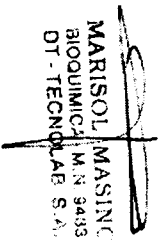


Tabla 14. Estimados de la precisión intrainstrumentos, interinstrumentos, intracuerpo y total para URLCO por prueba y blanco.

Miembro del panel	n	Promedio	Desv. Est. (Desv. Est.)	URLCO	Desv. Est. (Desv. Est.)	CV%	Desv. Est. (Desv. Est.)	CV%	Desv. Est. (Desv. Est.)	CV%	Desv. Est. (Desv. Est.)	CV%	Total
1	54	0.2152	0.0215	9.9767	0.0000	0.0000	0.1183	55.4447	0.1709	56.1831	0.1719	54.4496	
	2	54	0.2238	0.0432	19.3001	0.0000	0.1102	49.2576	0.1219	54.4496	0.1219	54.4496	
	3	54	2.4554	0.1378	5.6129	0.0265	1.1620	0.2407	9.8019	0.2447	9.8046	0.2447	9.8046
	4	54	3.5688	0.2089	5.8813	0.0733	2.1112	0.5905	16.5450	0.5969	16.4461	0.5969	16.4461
	5	54	11.4036	0.5745	5.0375	0.3610	3.3409	1.3367	11.7217	1.3267	11.6516	1.3267	11.6516
2	54	15.9090	0.7444	4.6794	0.6632	4.1693	3.1325	19.6916	3.0799	19.3418	3.0799	19.3418	

Se realizó un estudio de precisión adicional en QIAGEN para determinar la precisión total de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC usando el instrumento DML 2000. Se preparó un panel de precisión de seis miembros usando una matriz de especímenes clínicos simulado consistente en células epiteliales cultivadas, suspendidas en medio de transporte de especímenes digene (STIM) y consistió en dos especímenes negativos, dos especímenes positivos bajos y dos especímenes positivos de nivel medio, todos conteniendo un dispositivo de recolección de capillo. Se probó cada panel por triplicado, dos paneles por placa, por dos técnicos, en el curso de 5 días. Se usó un panel repetidamente desnaturalizado por placa. Se presentaron los resultados de la precisión total para la prueba de ADN digene HC2 CT/GC compilados para los cinco días de pruebas en la tabla 15. Aunque no es evidente de estas tablas, la interpretación cuantitativa de los resultados fue del 100% en concordancia con el resultado esperado (120/120; 99.87%-100% IC del 95%), cuando se usaba un URLCO de 1.0.

Tabla 15. Precisión total para la prueba de ADN digene HC2 CT/GC.

Member del panel	n	URLCO	Desv. Est. (Desv. Est.)	CV%	Desv. Est. (Desv. Est.)	CV%	Desv. Est. (Desv. Est.)	CV%
1	120	0.11	0.0746	67.91	0.04	0.02	0.28	2.5
2	120	0.11	0.0837	76.33	0.02	0.05	5.31	5.31
3	120	3.68	0.8152	22.13	2.05	2.80	5.86	5.86
4	120	4.28	0.8899	16.13	19.27	9.62	21.70	21.70
5	120	15.66	3.0181	19.27	12.91	12.91	27.69	27.69

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica/límites de detección (LOD) de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC fueron determinados probando directamente las diluciones de un panel no clínico consistente en 114 aislados separados de *Neisseria gonorrhoeae*, 15 serotipos de *Chlamydia trachomatis*, dos aislados de *Chlamydia psittaci* y dos aislados de *Chlamydia pneumoniae*. Los 114 aislados representaron 13 serotipos cinco serotipos, 10 cepas resistentes a antibióticos, dos cepas sin plásmido, y 2 aislados no caracterizados encontrados discordantes en el estudio multicéntrico. Se probaron las series de diluciones de cuatro puntos de cada uno de los serotipos y autotipos usando la prueba de ADN digene HC2 CT/GC para establecer los límites de detección para la prueba.

Se resume el límite de detección para cada serovar de *Chlamydia* y cepas de *Neisseria gonorrhoeae* en la tabla 16. Con base en estos datos, se determinó que el LOD de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC era 2500 *Chlamydia trachomatis* E8 serotipo. Esta determinación está limitada por la habilidad de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC en detectar los serotipos E y J de *Chlamydia* en 2500 UFC/ensayo, sin embargo, el rango para los 15 serotipos de CT fue de 50 a 2500 UFC/ensayo (1000 a 50,000 UFC/ml).

Los serotipos de CT más comunes en los Estados Unidos para mujeres asintomáticas menores a 30 años de edad son E, F y D (en orden decreciente). Para mujeres en edad de 17 a 66 que estaban asintomáticas a una clínica ginecológica en el centro de la ciudad, los serotipos de CT más prevalentes encontrados fueron F, E y G (en orden decreciente). Los autores de este documento

Organismos que ciertos servidores podrían estar asociados con infecciones sintomáticas (esto es, servidor G) o asintomáticas (esto es, servidores D e I).

Para los 114 aislados de Neisseria, se determinó que el LOD inferior de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC era 5000 organismos/ml. Esta determinación está limitada por la sensibilidad de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC en detectar dos de cinco aislados sin plásmido, uno de 10 aislados resistentes a la penicilina, servidor IA-1 ó IA-2, servidor IA-5, una cepa resistente a espectinomina, y uno de cinco aislados holandeses de TRNG americanos de TRNG en 5000 organismos/ml. El límite de detección inferior para los 114 aislados de GC iban de 25 a 5000 UFC/ml (500 a 100,000 UFC/ml).

Tabla 16. Resumen de los organismos y límite de detección inferior en la prueba de ADN digene HC2 CT/GC.

Organismo	UFC/ml detectables	UFC/ml de la concentración
N. gonorrhoeae Ausotipo 1	1000	50
N. gonorrhoeae Ausotipo 12	500	25
N. gonorrhoeae Ausotipo 16	5000	250
N. gonorrhoeae Ausotipo 22	50,000	2500
N. gonorrhoeae Ausotipo 5	500	25
N. gonorrhoeae Ausotipo 9	50,000	2500
N. gonorrhoeae Ausotipo AHU	10,000	500
N. gonorrhoeae Ausotipo Arg	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae Ausotipo AU	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae Ausotipo PAU	10,000	500
N. gonorrhoeae Ausotipo Pro	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae Ausotipo Proto	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae Intermediario de epifloraxina (Cip)	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae Resistente de epifloraxina (Cip R)	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae C4IRNG	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae Otro - 5423	1000	50
N. gonorrhoeae Otro - 5858	1000	50
N. gonorrhoeae PenR	10,000	500
N. gonorrhoeae Cepa sin plásmido, otro	1000 - 100,000	50 - 5000
N. gonorrhoeae PPMG 3.05	10,000 - 100,000	500 - 5000
N. gonorrhoeae PPMG 3.2	10,000	500
N. gonorrhoeae PPMG 4.4	1000 - 100,000	50 - 5000
N. gonorrhoeae Servar IA-1 ó IA-2	10,000 - 100,000	500 - 5000
N. gonorrhoeae Servar IA-5	10,000 - 100,000	500 - 5000
N. gonorrhoeae Servar IB-1	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae Servar IB-4 ó IB-15	10,000	500
N. gonorrhoeae Servar IB-5	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae resistente a espectinomina (SpeR)	100,000	5000
N. gonorrhoeae TRNG	1000 - 10,000	50 - 500
N. gonorrhoeae TRNG americano	10,000 - 100,000	500 - 5000
N. gonorrhoeae TRNG holandeses	10,000 - 100,000	500 - 5000
N. gonorrhoeae Cepa de tipo	500	25

Organismo	EB/ml detectables	EB/ml de la concentración
Chlamydia trachomatis serovar A	10,000	500
Chlamydia trachomatis serovar B	10,000	500
Chlamydia trachomatis serovar Ba	5000	250
Chlamydia trachomatis serovar C	10,000	500
Chlamydia trachomatis serovar D	10,000	900
Chlamydia trachomatis serovar E	50,000	2500
Chlamydia trachomatis serovar F	1000	50
Chlamydia trachomatis serovar G	1000	50
Chlamydia trachomatis serovar H	10,000	500
Chlamydia trachomatis serovar I	1000	50
Chlamydia trachomatis serovar J	50,000	2500
Chlamydia trachomatis serovar K	20,000	1000
Chlamydia trachomatis serovar L1	2000	100
Chlamydia trachomatis serovar L2	2000	100
Chlamydia trachomatis serovar L3	5000	250

Especificidad analítica
Se probó una batería de bacterias, virus plásmidos y material celular humano o productos sanguíneos potencialmente encontrados en el tracto anogenital femenino para determinar si cruzada una muestra cruzada con las sondas de CTIGC usadas para la prueba de ADN *diagne* HC2 CTIGC. Se probaron todos los microorganismos en concentraciones de 10⁵ y 10⁶ organismos por mL y, cuando es posible, con 10⁷ organismos por mL, al menos que se indique lo contrario a continuación. Se probó el ADN purificado de virus y plásmidos en una variedad de concentraciones, como se indica a continuación.

Se encuentra a continuación una lista de las bacterias probadas.	Concentraciones probadas (organismos/mL).
<i>Acinetobacter anitratus</i>	<i>Neisseria caviae</i> (2 aislados) *
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Neisseria curvif (3 aislados)</i> *
<i>Acinetobacter nrofl</i>	<i>Neisseria caryia</i> (6 aislados)
<i>Actinobacter kerosis</i>	<i>Neisseria flavescens</i> (4 aislados)
<i>Actinomyces israeli</i>	<i>Espece</i> <i>Neisseria</i> *
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Neisseria lactamica</i> (6 aislados) *
<i>Bacteroides subtilis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> (grupos A, B, C, W135, Y)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Neisseria mucosa</i> (6 aislados) *
<i>Bacteroides merismogeneticus</i>	<i>Neisseria polysaccharina</i>
<i>Branhamella catenulata</i> (6 aislados)	<i>Neisseria sicca</i> (6 aislados)
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria subflava</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Neisseria subflava biovar/perflava</i> (6 aislados)
<i>Chlamydia pneumoniae</i> *	<i>Neisseria subflava biovar/perflava</i> (4 aislados) *
<i>Chlamydia psittaci</i> (2 cepas)	<i>Neisseria subflava biovar/perflava</i> (4 aislados) *
<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovares B, Ba, E, J, L3) *	<i>Peptostreptococcus asaccharalyticus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Proctus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proctus vulgaris</i>
<i>Escherichia coli</i> (estado clínico) †	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *
<i>Escherichia coli</i> (H8101) †	<i>Salmonella Minnesota</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Gemella haemolytica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (ToxA +)
<i>Haemophilus duroyi</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> (grupo B)
<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Kingella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A)
<i>Leptothelacium acidoiphilum</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A)
<i>Mobiluncus curtisi</i>	<i>Trichomonas pallidum</i>
<i>Mobiluncus muliensis</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Mycoplasma hominis</i>	
<i>Mycoplasma hyosilvis</i>	

Concentraciones probadas (organismos/mL):
5 x 10⁵, 5 x 10⁶, 5 x 10⁷, 8 x 10⁷, 8 x 10⁸, 9 x 10⁸, 9 x 10⁹, 9 x 10¹⁰

† Se probaron tanto la cepa de E. coli usada para cultivar plásmidos (H8101) como un estado único de E. coli

* Cepa de *Neisseria* de ATCC que tiene características tanto de *Neisseria gonorrhoeae* como de *Neisseria meningitidis* (ATCC 49231).

Los organismos que demostraron una reactividad cruzada son:
Concentración mínima en la cual se observa la reactividad cruzada (organismos/mL)
Chlamydia psittaci (1 de 2 aislados) 1 x 10⁶
Neisseria lactamica (1 de 6 aislados) 1 x 10⁵
Neisseria meningitidis (grupo Y, 1 de 2 aislados) 1 x 10⁵
Neisseria mucosa (1 de 6 aislados) 5 x 10⁵
Neisseria curvif (1 de 3 aislados) 9.7 x 10⁴

Las tres cepas de *Neisseria* (*Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria mucosa*) se encuentran todas por separado en la nasofaringe y el sistema respiratorio superior. Estos organismos, así como también *Neisseria curvif*, se aíslan en raras ocasiones del sistema urinario. Se determinó que el aislado de *Neisseria meningitidis* del grupo Y reactivo cruzado no era fiable con tipo de hipotesis reactivo y se encuentra raramente en la población general. Puede detectarse *Chlamydia psittaci* de la piel de algunas personas que trabajan con o manejan especies avícolas, pero no se ha detectado en el tracto anogenital.

No todas las cepas de una cepa en particular eran reactivas cruzadas con la prueba de ADN *diagne* HC2 CTIGC. Por ejemplo, cinco de los seis aislados de *Neisseria lactamica* o *Neisseria mucosa* analizados eran negativos en la prueba de ADN *diagne* HC2 CTIGC, como lo era una de las dos cepas de *Chlamydia psittaci* probadas.

A continuación se encuentra una lista del ADN viral, ADN plásmido y material celular humano o productos sanguíneos probados:
Chlamydia trachomatis *
Virus Epstein Bar *
Antígeno de superficie de hepatitis B suero positivo *
Herpes Simplex I *
Herpes Simplex II *
Virus de inmunodeficiencia humana (HIV-1) *
Virus de inmunodeficiencia humana *
ADN genómico humano *
ADN plásmido humano *
Suero total humano *

<i>Virus del papiloma humano</i> , tipo 6 ¹	
<i>Virus del papiloma humano</i> , tipo 11 ¹	
<i>Virus del papiloma humano</i> , tipo 16 ¹	
<i>Virus del papiloma humano</i> , tipo 18 ¹	
pBR322	
SV40	
pcDNA3.2 ⁺	
pcDNA3.2(+)	
Células epiteliales humanas **	

Concentraciones probadas:
* 1 x 10⁵, 1 x 10⁶, 1 x 10⁷ partículas virales/mL
* 1 x 10⁵, 1 x 10⁶, 1 x 10⁷ partículas virales/mL
* 2.9 x 10⁵, 1.1 x 10⁶ partículas virales/mL
* 6.1 x 10⁵, 2.4 x 10⁶ partículas virales/mL
* 2.7 x 10⁵, 1.1 x 10⁶ copias/mL
* 1.1 x 10⁵, 4.6 x 10⁶ partículas virales/mL
* 2 x 10⁵, 2 x 10⁶, 2 x 10⁷ partículas virales/mL
* 5%, 10%, 50%
* 2.1 x 10⁴, 8.3 x 10⁴ copias/mL
* 1 ng/mL, 4 ng/mL
* 3.4 x 10⁵, 1.4 x 10⁶ copias/mL
* 2.9 x 10⁵, 1.1 x 10⁶ copias/mL
* 1 x 10⁵, 1 x 10⁶, 1 x 10⁷ células/mL

Ninguno de los virus probados mostró una reactividad cruzada en la prueba de ADN *diagne* HC2 CTIGC. Se observó la única reactividad cruzada con plásmidos pBR322, pGEM 3Z, y pGEM 3Z(+). Todos los demás ADN, incluyendo el ADN humano, eran negativos. La sangre humana y las células epiteliales no reaccionaron de manera cruzada con la prueba de ADN *diagne* HC2 CTIGC. Se espera una reactividad cruzada entre la sonda pBR322 y CTIGC porque es difícil prevenir la transcripción de un pequeño porcentaje de secuencia de vectores durante la fabricación de la sonda de CTIGC. Se ha reportado la presencia de secuencias homologas de pBR322 en especímenes genitales humanos, y podrían ocurrir resultados falsos positivos en presencia de ellos.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA M N 9483
DT-TECNICIANA S.A

niveles de plasmido bacteriano. De 198 especímenes clínicos de un estudio multicéntrico de EE.UU. encontrados positivos para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC, solamente se identificó uno en tener secuencias de pBR322 reactivas cruzadas (0.08% de todos los especímenes probados). Así, parece que es baja la probabilidad de resultados falsos positivos de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC debido a secuencias de pBR322 homólogas en especímenes clínicos.

Varios organismos productores serían altamente elevadas cuando se probaban inicialmente con la sonda de CT/GC. Aunque estos organismos todavía se interpretarían como negativos porque los valores de UR/LCO eran < 1.0, se reevaluaron para demostrar que estos organismos no producen de forma consistente una característica de señales elevadas de un organismo reactivo cruzado. En la segunda prueba, todos los valores de UR/LCO eran < 0.30 para la concentración más alta probada, confirmando que estos compuestos no reaccionan de manera cruzada con la sonda de CT/GC.

Efecto de la sangre y otras sustancias en STM

Se evaluó el efecto de la sangre y otras sustancias definidas potencialmente interferentes en la prueba de ADN digene HC2 CT/GC. Se adicionaron la sangre total, y una marca comercial de ducha vaginal, crema antihigiénica y jales anticonceptivos (agentes que pueden encontrarse comúnmente en especímenes cervicales) a especímenes positivos (reuniones de especímenes clínicos) en concentraciones del 1% y 5%, a especímenes negativos y positivos en STM (reuniones de especímenes clínicos y especímenes no clínicos). No se observaron resultados falsos positivos o falsos negativos con ninguno de los cuatro agentes en ninguna concentración (tablas 17 y 18). Un estudio de sustancias irrelevantes presentes en una población de 100 especímenes clínicos negativos mostró que las sustancias irrelevantes no muestran la generación de una señal positiva en la prueba de ADN digene HC2 CT/GC. Dada la distribución general de los 100 especímenes cerca del límite de detección, es improbable que algún material desconocido en los especímenes clínicos afectaría de forma adversa la interpretación de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC.

Tabla 17. Efecto de la sangre y otras sustancias definidas en el organismo de CT de los resultados de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC.

Sustancia interferente	Conc.	Especímenes clínicos reunidos		Especímenes de transporte	
		UR/LCO observado	UR/LCO observado	UR/LCO observado	UR/LCO observado
Ninguno (control) de sangre	1% 5%	NA -37%	3.26 3.15	NA -4%	2.81 3.47
Ducha vaginal	1% 5%	+55% +12%	3.43 3.44	+5% -8%	2.74 2.86
Crema antihigiénica	1% 5%	+12% +10%	3.34 3.27	+2% +1%	2.75 3.05
Jales anticonceptivos	1% 5%	-26% -37%	3.25 3.38	+1% +4%	3.24 2.90

* Adicionado con 50.000 EBU/ml de suero E de organismo CT

Tabla 18. Efecto de la sangre y otras sustancias definidas en el organismo GC de los resultados de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC.

Sustancia interferente	Conc.	Especímenes clínicos reunidos		Especímenes de transporte	
		UR/LCO observado	UR/LCO observado	UR/LCO observado	UR/LCO observado
Ninguno (control) de sangre	1% 5%	3.69 3.48	NA -5%	2.49 3.54	NA +42%
Ducha vaginal	1% 5%	3.15 3.15	-13% -15%	2.90 2.72	+17% +10%
Crema antihigiénica	1% 5%	2.96 3.13	-22% -16%	2.41 2.61	-3% +5%
Jales anticonceptivos	1% 5%	3.09 3.00	-16% -19%	2.85 2.68	+14% +8%

* Adicionado con 10 UFC/ml de organismo GC de suero T

Información histórica

Historicamente, se usó el luminómetro Dymax modelo MLX además del instrumento DML 2000 para generar datos y determinar las características de desempeño de la prueba de ADN digene HC2 CT/GC. Ya no está disponible para su uso el luminómetro MLX, y solamente los luminómetros aprobados por QIAGEN (incluyendo el instrumento DML 2000) se usan para generar los resultados. Se generaron los siguientes datos del estudio clínico multicéntrico para demostrar la reproducibilidad de los calibradores negativos y positivos y se proporcionan a continuación como información histórica.

Para determinar la reproducibilidad de los calibradores negativos y positivos, se completaron los resultados de las evaluaciones clínicas que involucraban 80 corridas del ensayo realizadas con la prueba de ADN digene HC2 CT/GC (véase la tabla 19). Los resultados mostraron que el %CV promedio para estas 80 corridas era del 5.2%, y ninguna corrida tuvo valores promedio del calibrador negativo en exceso del 25% CV para el calibrador positivo en exceso del 25% CV para solamente una corrida del total de 80 realizadas (1.25%). No obstante, la exclusión de un solo marginal y el recalcado de % CV realizado por el software del luminómetro indicaron que la corrida de la prueba era válida.

Tabla 19. Desempeño de los datos combinados de los calibradores negativos y positivos del estudio clínico multicéntrico y el estudio de precisión (n = 80 corridas)

Instrumento	No. de corridas	Puntaje de las razones	Tipo de calibrador	Promedio del promedio calculado (URL)		Promedio de los %CV calculados	
				Tras duplicados	Ajustado para los marginales	Tras duplicados	Ajustado para los marginales
DML 2000	9	5.22	Negativo	45.83	35.21	28.74	8.62
MLX*	71	4.23	Positivo	238.61	238.61	4.63	4.63
			Negativo	0.0513	0.0482	15.62	9.98
			Positivo	0.1902	0.1905	5.29	4.74

* Va no está disponible para su uso.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA I.M.N. 9483
DT-TECNOLAB S.A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. Table II. Provisional cases of selected notifiable diseases, United States, weeks ending December 28, 1996, and December 30, 1995 (52nd week). MMWR 3 de enero de 1997;45(15):2113-9.
2. Division of STD/HIV Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance, 1991. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA. Centers for Disease Control Julio de 1992.
3. Rolfs RT, Galaid EI, Zedli AA. Pelvic inflammatory disease: trends in hospitalizations and office visits 1979 through 1988. Am J Obstet Gynecol marzo de 1992;166(3):983-90.
4. Centers for Disease Control. Pelvic inflammatory disease: guidelines for prevention and management. MMWR 26 de abril de 1991;40(RR-5):1-25.
5. Washington AE, Katz P. Cost of and payment source for pelvic inflammatory disease: trends and projections, 1983 through 2000. JAMA 13 de noviembre de 1991;266(18):2565-9.
6. Washington AE, Johnson RE, Sanders LL, Jr. Chlamydia trachomatis infections in the United States: what are they costing us? JAMA 17 de abril de 1987;257(15):2070-2.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. MMWR 24 de septiembre de 1990;42(RR-14):1-102.
8. Linn J. The growth cycle of the pathogenic group of micro-organisms. J Infect Dis 1989;163:179-80.
9. Matsunoto A, Higashi N. Electron microscopic observations of DNA molecules of the mature elementary bodies of Chlamydia psittaci. Ann Rep Int Virus Res, Kyoto Univ 1973;18:33-9.
10. Schachter J. Chlamydiae (patricocci-typhogranulosa venereum-trachoma group). En: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Jr., Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4ª ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1985. pp. 856-82.
11. Stephens RS, Tam MR, King C, Nominati RC. Monoclonal antibodies to Chlamydia trachomatis: antibody specificities and antigen characterization. J Immunol 1992;128(3):1093-9.
12. Barnes RC. Laboratory diagnosis of human Chlamydia infections. Clin Microbiol Rev 1989;2(2):119-36.
13. Sarram WE, Tam M, Koester M, Ches L. Detection of Chlamydia trachomatis inclusions in McCoy cell cultures with fluorescein-conjugated monoclonal antibodies. J Clin Microbiol 1983;17(4):986-8.
14. Rao KT, March P. Cultivation of Chlamydia trachomatis in cycloheximide-treated McCoy cells. J Clin Microbiol 1977;8(4):328-31.
15. Chagnac M, Mahony JB, Casticcano S, Moore M, Stewart IO, Landis SJ, Sadelman W, Sengstack EJ, Leman C. Detection of Chlamydia trachomatis antigens by enzyme immunoassay and immunofluorescence in genital specimens from symptomatic and asymptomatic men and women. J Infect Dis 1988;154(1):141-8.
16. Horn JE, Quinn T, Hammer M, Palmer L, Farkow S. Use of nucleic acid probes for the detection of sexually transmitted infectious agents. Diagn Microbiol Infect Dis 1988;4:1015-85.
17. Palmer L, Farkow S. A common plasmid of Chlamydia trachomatis. J Infect Dis 1988;157:52-62.
18. Bado L, Gaudin F, Yokken RH, Quinn T, Vilard RP. Diagnosis of Chlamydia trachomatis genital infection by detection of amplified DNA with an enzyme immunoassay. J Clin Microbiol 1980;20(9):1986-73.
19. Roongrasuthipong A, Lewis JS, Kraus SJ, Morse SA. Gonococcal urethritis diagnosed from enzyme immunoassay of urine sediment. Sex Transm Dis 1988;15(4):182-5.
20. Schachter J, McCormick WM, Smith RF, Parks RM, Bailey R, Ohlin AC. Enzyme immunoassay for diagnosis of gonorrhea. J Clin Microbiol 1984;19(11):57-9.
21. Knapp JS. Historical perspectives and identification of Neisseria and related species. Clin Microbiol Rev 1988;1(4):415-31.
22. Knapp JS, Rice RJ, Nessera and Granhamela. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover JC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 6ª ed. Washington, DC: ASM Press; 1995. pp. 324-40.
23. Moulder JW. Characteristics of Chlamydiae. En: Barron AL, editor. Microbiology of Chlamydia Boca Raton, FL: CRC Press; 1988. pp. 3-19.
24. Kingsbury DT. Estimate of the genome size of various microorganisms. J Bacteriol junio de 1989;98(3):1400-1.

MARISOL MASINO
 BIOQUÍMICA M N 9483
 DT - TECNOLAB S.A.

25. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens: Final Rule. Federal Register 1991;56(235):54175-82.
26. US Department of Health and Human Services. Bioreactivity in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication No. (CDC) 93-5305. Washington, DC: US Government Printing Office, Mayo de 1993.
27. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1993.
28. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. Approved Guidelines. Document M29-A de CLSI/NCCLS. Wayne, PA: CLSI/NCCLS; 1987.
29. CDC. Recommendations for Prevention of HIV Transmission in Health-Care Settings. MMWR 1987;36(25):35-185.
30. Senzilet LM, Hollinger FB, Dreesman GR, et al. Immunological and Biophysical Alteration of Hepatitis B Virus Antigens by Sodium Hypochlorite Disinfection. Appl Envir Microbiol 1981;42(5):762-7.
31. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Clinical Laboratory Waste Management: Approved Guidelines. Document GPS-A2 de CLSI/NCCLS. Villanova, PA: CLSI/NCCLS; 1993;13(22):1-18, 29-42.
32. US Environmental Protection Agency. EPA Guide for Infectious Waste Management. Publication No. EPA/530-SW-86-014. Washington, DC: US Environmental Protection Agency; 1986;1-1-5, R1-R3, A1-A24.
33. Martin LS, McDougal JS, Loskoff SL. Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III / lymphadenopathy-associated virus. J Infect Dis 1985;152(2):400-3.
34. Lan J, et al. Prevalence and Serovar Distribution of Asymptomatic Cervical Chlamydia trachomatis Infections as Determined by Highly Sensitive PCR. 1995. Journal of Clinical Microbiology, pp. 3194-3197.
35. Manual of Clinical Microbiology, quinta edición. Jefe de editores: Barlow, 1990. Schachter, Chlamydiae, sección VIII, capítulo 103, páginas 1045-1053.
36. J.G. Holt, N.R. Krieg (jefe de editores; editor, volumen 1). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol 1, Williams & Wilkins; Baltimore/Londres; 1984.
37. C.R. Mahon, G. Manuvelis (editores). Textbook of Diagnostic Microbiology. W.B. Saunders Company, Filadelfia; 1985.
38. Iwen, P. C., R. A. Walker, K. L. Warren, D. M. Kelly, S.H. Hendrix y J. Under. (1995). Evaluation of nucleic acid-based test (PACE 2C) for simultaneous detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in endocervical specimens. J Clin Microbiol 33: 2597-2591.
39. Comunicados personales en archivo en DIAGEN Gatterberg, Inc.

GUÍA DE IDENTIFICACIÓN Y RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

OBSERVACION	PROBLEMAS CAUSAS	SOLUCIONES
1. QC-C1 y QC-C2 Inoperante al detectar medida de nivel de decontaminación	Reacción de demagnetización no adecuada, o reacción de demagnetización no preparado Cableado incorrecto de QC de CI y QC en la placa	1. Verifique que el reactor de demagnetización conecte al cableado indicador y sea de un color pairwise oscuro. 2. Verifique que se adicione el reactor de demagnetización al espécimen midiendo el volumen del espécimen (se esperan 1.5 ml). Si el volumen indica que no se adicionó el reactor de demagnetización, haga la adición apropiada, mezcle y siga con el ensayo. Si el volumen indica que se adicionó el reactor de demagnetización, mezcle y siga con el ensayo. El espécimen puede ser fuertemente ácido; de esa modo, no ocurre el efecto de color esperado. Reemplaza un espécimen nuevo antes de la aplicación del ácido sobre el tubo, porque el pH del espécimen impactado afecta la forma externa, los resultados de la prueba. Ajuste la microplaca de hidratación por dos minutos adicionales. Si hay poca reacción permanente purpura o gris, agregue 25 µl de aditivos de la sonda y mezcle bien. Si en la adición de la sonda la reacción no ocurre el color esperado y el espécimen con color, cambie el sopleo o otros metales. Vuelva a probar el espécimen.
2. Viraje de color inesperado o no observado durante la demagnetización.	El espécimen está agrietado Puede ocurrir el viraje del color naturalmente ácido.	No se espere el viraje de color oscuro dentro con esta tipo de espécimen. Si ocurre el viraje de color oscuro, reemplaza un espécimen nuevo. El espécimen puede ser fuertemente ácido; de esa modo, no ocurre el efecto de color esperado. Reemplaza un espécimen nuevo antes de la aplicación del ácido sobre el tubo, porque el pH del espécimen impactado afecta la forma externa, los resultados de la prueba. Ajuste la microplaca de hidratación por dos minutos adicionales. Si hay poca reacción permanente purpura o gris, agregue 25 µl de aditivos de la sonda y mezcle bien. Si en la adición de la sonda la reacción no ocurre el color esperado y el espécimen con color, cambie el sopleo o otros metales. Vuelva a probar el espécimen.
3. Viraje de color inesperado observado durante la hidratación.	Mezcla inadecuada de la mezcla de sonda con catalizador, control de calidad y/o especímenes de decontaminación. No se adicione la mezcla de sonda. Volumen incorrecto de reactivo adicionado. El espécimen está agrietado. Puede ocurrir el viraje del color.	No se espere el viraje de color oscuro dentro con esta tipo de espécimen; no deberán obtenerse de ninguna manera los resultados de la prueba del ensayo. Chequea el volumen del espécimen original. El volumen deberá ser de 1.425 µl a 20 µl (depende de qué 75 µl). Si el volumen es < 1.425 µl, el espécimen original contiene < 1000 µl de STM. Ortega un espécimen nuevo. Reemplaza la mezcla de sonda de QC/COC como se describe en la sección Preparación de reactivos. El volumen de sonda debe ser de 1.425 µl. Prepare la mezcla de sonda, reemplaza la sonda en un frasco limpio, usando mezcla de sonda inmediatamente preparada. Reemplaza el tubo y asegúrese de no haber agrietado el tubo. Después de adicionar el espécimen de demagnetización a la mezcla de sonda, colore la microplaca de hidratación y agite en el agitador giratorio a 1100 rpm por 3 a 2 minutos, como se describe en la sección Preparación de reactivos. Después de la hidratación, reemplaza la sonda en un frasco limpio. Solamente use reactores de hidratación desechables nuevos. Después de adicionar la sonda al tubo de sonda; mezcla completamente colocando el tubo a alta velocidad durante por lo menos cinco segundos. Debe producirse un viraje visible. Después de adicionar el espécimen de demagnetización a la mezcla de sonda, colore la microplaca de hidratación y agite en el agitador giratorio a 1100 rpm por 3 a 2 minutos, como se describe en la sección Preparación de reactivos. Después de la hidratación, reemplaza la sonda en un frasco limpio. Si no hay un viraje de color, deberán volverse a probar los especímenes. Hidrate por 60 ± 5 minutos a 65 ± 2 °C, como se describe en la sección Preparación de reactivos. Después, pase 4 de estas indicaciones de uso. Chequee la temperatura del calentador de incubación; asegúrese de que el calentador está puesto para calentar los especímenes a la temperatura correcta. Verifique que el calentador y que sea programado para una hora antes de su uso. Agite en el agitador giratorio a 1100 rpm por 60 ± 5 minutos a 20 ± 2 °C, como se describe en la sección Preparación de reactivos. Después de la hidratación, reemplaza la sonda en un frasco limpio. Resumen en la sección Preparación de reactivos del operador del agitador giratorio. Papeles 75 µl del reactor de detección 1 en cada tubo usando una pipeta de cinco canales. Incubar a 20/25 °C por 30 a 45 minutos.
4. El ensayo falla por problemas de verificación de la calibración. No se obtiene ninguna señal en el calentador. Problemas de calidad o especímenes.	No. Especificación de sonda al tubo. Sonda contaminada con RNAsi durante la preparación. Mezcla inadecuada de sonda y aditivos de sonda. Mezcla inadecuada de sonda dentro de sonda. Mezcla inadecuada de sonda dentro de sonda. Mezcla inadecuada de sonda dentro de sonda.	Verifique que el reactor de demagnetización conecte al cableado indicador y sea de un color pairwise oscuro. Verifique que se adicione el reactor de demagnetización al espécimen midiendo el volumen del espécimen (se esperan 1.5 ml). Si el volumen indica que no se adicionó el reactor de demagnetización, haga la adición apropiada, mezcle y siga con el ensayo. Si el volumen indica que se adicionó el reactor de demagnetización, mezcle y siga con el ensayo. El espécimen puede ser fuertemente ácido; de esa modo, no ocurre el efecto de color esperado. Reemplaza un espécimen nuevo antes de la aplicación del ácido sobre el tubo, porque el pH del espécimen impactado afecta la forma externa, los resultados de la prueba. Ajuste la microplaca de hidratación por dos minutos adicionales. Si hay poca reacción permanente purpura o gris, agregue 25 µl de aditivos de la sonda y mezcle bien. Si en la adición de la sonda la reacción no ocurre el color esperado y el espécimen con color, cambie el sopleo o otros metales. Vuelva a probar el espécimen.

MARISOL MASINO
BIQUIMICA S.A. N.º 9483
DT. TECNOLÓGICO S.A.

1. Falso en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección.	1. Falso en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección. 2. Falso en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección.	1. Reemplazo a las secciones de mantenimiento preventivo e identificación y resolución de problemas en el software de análisis aplicable de la guía de usuario de ensayos, dígame para más instrucciones, o llame a su representante de QIAAGEN local. 2. Verifique que la pipeta respeta sea suministrada correctamente entre las secciones de demagnetización y de hidratación. Las pipetas calibradas en posición de aspirar de cada tubo y mezcla bien. Para más detalles sobre el tubo (verifique el tubo una vez si se mezcla manualmente). Los calibradores, controle la calidad y especímenes obtenidos durante purpura después de se añaden del reactor de demagnetización. Chequee la calibración de velocidad del Vortexer de tubos multiplicadores.
2. Falta en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección.	2. Falta en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección.	1. Reemplazo a las secciones de mantenimiento preventivo e identificación y resolución de problemas en el software de análisis aplicable de la guía de usuario de ensayos, dígame para más instrucciones, o llame a su representante de QIAAGEN local. 2. Verifique que la pipeta respeta sea suministrada correctamente entre las secciones de demagnetización y de hidratación. Las pipetas calibradas en posición de aspirar de cada tubo y mezcla bien. Para más detalles sobre el tubo (verifique el tubo una vez si se mezcla manualmente). Los calibradores, controle la calidad y especímenes obtenidos durante purpura después de se añaden del reactor de demagnetización. Chequee la calibración de velocidad del Vortexer de tubos multiplicadores.
3. Falta en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección.	3. Falta en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección.	1. Reemplazo a las secciones de mantenimiento preventivo e identificación y resolución de problemas en el software de análisis aplicable de la guía de usuario de ensayos, dígame para más instrucciones, o llame a su representante de QIAAGEN local. 2. Verifique que la pipeta respeta sea suministrada correctamente entre las secciones de demagnetización y de hidratación. Las pipetas calibradas en posición de aspirar de cada tubo y mezcla bien. Para más detalles sobre el tubo (verifique el tubo una vez si se mezcla manualmente). Los calibradores, controle la calidad y especímenes obtenidos durante purpura después de se añaden del reactor de demagnetización. Chequee la calibración de velocidad del Vortexer de tubos multiplicadores.
4. Falta en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección.	4. Falta en involucrar por el tiempo especificado. Falta en registrar la cantidad correcta del reactor de detección.	1. Reemplazo a las secciones de mantenimiento preventivo e identificación y resolución de problemas en el software de análisis aplicable de la guía de usuario de ensayos, dígame para más instrucciones, o llame a su representante de QIAAGEN local. 2. Verifique que la pipeta respeta sea suministrada correctamente entre las secciones de demagnetización y de hidratación. Las pipetas calibradas en posición de aspirar de cada tubo y mezcla bien. Para más detalles sobre el tubo (verifique el tubo una vez si se mezcla manualmente). Los calibradores, controle la calidad y especímenes obtenidos durante purpura después de se añaden del reactor de demagnetización. Chequee la calibración de velocidad del Vortexer de tubos multiplicadores.

<p>El Buzzone de PCMC, luego o año número de especificaciones y valores de los especificaciones. El UML/CO puede fallar las conexiones de validación.</p>	<p>Preparación, inspección de los especificaciones.</p>	<p>Agrupar el volumen apropiado de reactivo de desaturación y mezcla completamente colocando en un frasco. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de que el líquido tiene toda la superficie interna del tubo colocado en un frasco con el método de volar de labor múltiples durante por lo menos cinco segundos (para el método de volar manual, coloque el vidrio durante por lo menos cinco segundos e invierta el tubo una vez). Debe verse un viraje de color dentro de purpura claro a oscuro. Incluye por 45.5 minutos a 65.1 ± 2 °C.</p> <p>Prepara la solución apropiada de reactivo de desaturación. Mezcla completamente el reactivo de desaturación con el agua y el agua con una pipeta medicada. Debe agregarse la mezcla de sodio a un tubo con una pipeta medicada o pipeteador para asegurar un volumen exacto.</p> <p>Verifique que la pipeta de color cambia está suministrando de forma exacta antes de agregar la mezcla de sodio a cada microzona de reacción. Adicione 25 µL de la mezcla de sodio a cada microzona que contiene las calibraciones, controles de calidad y especificaciones de desaturación. El viraje de color deberá ser de purpura oscuro a amarillo en la solución y una mezcla completa de la mezcla de sodio.</p> <p>Conecte el reactor de detección 1 a 2.31 °C. Use una arena de la teca de conductividad en el reactor de la CMC sistema del UML.</p> <p>Use el reactor de desaturación para capturar usando el agitador giratorio (puede ser 1000 rpm) para la velocidad del agitador como se describe en el método de validación. Coloque el reactor de desaturación en el reactor de desaturación 1.</p> <p>Lave los microzonas completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando los pozos a sobrepasar cada vez o usando el lavador de placas automatizado.</p> <p>Chequea la solución amortiguadora de lavado por contaminación. Pídale 10 µL de solución amortiguadora de lavado en 75 µL de reactivo de detección 2 en un microzona de captura en blanco. Coloque y incluya 15 minutos a 20-25 °C. Lave el microzona en el lavador. Lave las placas por cinco a 150 UML. Verifique la contaminación de la solución amortiguadora de lavado. Vasea la solución amortiguadora de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado.</p>
<p>7. Series de especificaciones con valores de UML. Aproximadamente iguales.</p>	<p>Confirmación de los microzonas de captura durante la manipulación del ensayo. Confirmación del reactor de detección 2.</p>	<p>Cada los microzonas de captura durante todas las incubaciones. Este es el reactor de desaturación y la contaminación de la solución de lavado que realiza el ensayo. Las guías blancas de fondo durante las incubaciones. Sea cuidadoso en no contaminar el reactor de desaturación. Vasea la solución de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado.</p>
<p>8. % CV siempre entre las duplicados.</p>	<p>Medición independiente del reactor de placas automatizado. Preparado manual (pero en burbujas de aire, pipeteo no calibrado). Mezcla manual.</p>	<p>Verifique la pipeta para asegurarse de que se están suministrando volúmenes reproducibles. Coloque las pipetas de forma cuidadosa. Mezcle completamente en todas las etapas. Coloque en un frasco y después de la incubación de desaturación y después de adicionar la mezcla de sodio. Asegúrese de que se produce un viraje visible. Tenga cuidado durante la etapa de transferencia de la microzona de reacción a la microzona de captura para asegurar que se transfieren volúmenes reproducibles.</p>
<p>9. % CV siempre entre las duplicados.</p>	<p>Continuación de microzonas del reactor de detección 1. Sección en la misma área de las placas Kormovet Wipac sobre bases blancas.</p>	<p>Lave las microzonas completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando los pozos a sobrepasar cada vez o usando el lavador de placas automatizado y los pipeteadores apropiados del lavador de placas automatizado. Asegúrese de que todas las superficies de trabajo estén limpias y secas. Tenga cuidado cuando use el reactor de detección 1. Evite aerosoles. No vuelva a sacar en la misma área de las placas Kormovet Wipac sobre bases blancas.</p>

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA, S.A.
DT - TECNOLAB S.A.

<p>9. Resultados blancos positivos obtenidos de especificaciones de especificaciones correctas.</p>	<p>Reactor de detección 2 contaminado. Confirmación de los microzonas del reactor de detección 1. Preparación inspeccionada del ensayo.</p>	<p>Sea cuidadoso en no contaminar de forma cruzada las especificaciones cuando adicione el reactivo de detección 2 entre los especificaciones. Si solamente usa parte de un UML, divida en partes adecuadas el volumen necesario para ese reactor en un reactor de reacción limpio para el ensayo. Lave los microzonas completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando los pozos a sobrepasar cada vez o usando el lavador de placas automatizado. No deberá haber ningún residuo residual visible en los microzonas después del lavado. Agrupar el volumen apropiado de reactivo de desaturación y mezcla completamente colocando en un frasco. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de que el líquido tiene toda la superficie interna del tubo colocado en un frasco con el método de volar de labor múltiples durante por lo menos cinco segundos (para el método de volar manual, invierta el tubo una vez). Debe verse un viraje de color dentro de purpura claro a oscuro. Incluye por 45.5 minutos a 65.1 ± 2 °C. Lave los microzonas completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando los pozos a sobrepasar cada vez o usando el lavador de placas automatizado. Verifique que la pipeta de color cambia está suministrando de forma exacta antes de agregar la mezcla de sodio a cada microzona de reacción. Adicione 25 µL de la mezcla de sodio a cada microzona que contiene las calibraciones, controles de calidad y especificaciones de desaturación. El viraje de color deberá ser de purpura oscuro a amarillo en la solución y una mezcla completa de la mezcla de sodio. Conecte el reactor de detección 1 a 2.31 °C. Use una arena de la teca de conductividad en el reactor de la CMC sistema del UML. Use el reactor de desaturación para capturar usando el agitador giratorio (puede ser 1000 rpm) para la velocidad del agitador como se describe en el método de validación. Coloque el reactor de desaturación en el reactor de desaturación 1. Lave los microzonas completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando los pozos a sobrepasar cada vez o usando el lavador de placas automatizado. Chequea la solución amortiguadora de lavado por contaminación. Pídale 10 µL de solución amortiguadora de lavado en 75 µL de reactivo de detección 2 en un microzona de captura en blanco. Coloque y incluya 15 minutos a 20-25 °C. Lave el microzona en el lavador. Lave las placas por cinco a 150 UML. Verifique la contaminación de la solución amortiguadora de lavado. Vasea la solución amortiguadora de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado.</p>
<p>10. Valores de UML, del calibrador negativo del ensayo manual (UML). El nivel del ensayo se desprecia como no especificado.</p>	<p>Se incubó el reactor de detección 2 a una temperatura mayor a 20-25 °C. Se incubó el reactor de detección 2 más de 30 minutos. Se contaminó el reactor de detección 2 o la solución amortiguadora de lavado con sustancias extrañas o reactor de detección 1.</p>	<p>La placa después de 15 minutos de incubación (o no más de 30 minutos de incubación) a 20-25 °C. Chequea el reactor de detección 2 por contaminación pipeteando 75 µL en un microzona de captura en blanco. Incluye a 20-25 °C por 15 minutos y laves en el lavador. Lave las placas por cinco a 150 UML. Verifique la contaminación de la solución amortiguadora de lavado. Vasea la solución de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado.</p>
<p>Valores de UML, del calibrador negativo del ensayo manual (UML). El nivel del ensayo se desprecia como no especificado.</p>	<p>Se incubó el reactor de detección 2 a una temperatura mayor a 20-25 °C. Se incubó el reactor de detección 2 más de 30 minutos. Se contaminó el reactor de detección 2 o la solución amortiguadora de lavado con sustancias extrañas o reactor de detección 1.</p>	<p>La placa después de 15 minutos de incubación (o no más de 30 minutos de incubación) a 20-25 °C. Chequea el reactor de detección 2 por contaminación pipeteando 75 µL en un microzona de captura en blanco. Incluye a 20-25 °C por 15 minutos y laves en el lavador. Lave las placas por cinco a 150 UML. Verifique la contaminación de la solución amortiguadora de lavado. Vasea la solución de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado. Vasea la sección de lavado y asegure que el reactor de desaturación de uso para desaturación sobre la solución de lavado.</p>

Reactivos evaluados	Procedimiento de verificación de contaminación	Interpretación de los resultados
<p>Reactivo de detección 2</p> <p>Nota: tenga cuidado cuando pipeteo el reactivo de detección 2 para evitar contaminación. Use cuantos y evite tocar las puntas para pipetas en cualquier superficie que sugiera de trabajo.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Pipeteo 75 µl del vial dividido en partes iguales, residual y/u original del reactivo de detección 2 en un micropozo de captura en blanco. Incluye 20-25° C por 15 minutos. Evite la luz solar directa. Lea en los micropozos en el luminómetro. 	<ul style="list-style-type: none"> El control del reactivo de detección 2 deberá ser < 50 URL. Si los valores del reactivo de detección 2 son < 50 URL, puede usarse el reactivo de detección 2 para repetir el ensayo. Si está contaminado (> 50 URL), obtenga un kit nuevo y repita el ensayo.
<p>Agarato y/o fuente de agua de la solución amortiguadora de lavado</p>	<ul style="list-style-type: none"> Pipeteo 75 µl del reactivo de detección 2 en tres micropozos de captura separados. Etiquete los pozos 1-4. El pozo 1 sirve como el control del reactivo de detección 2. Pipeteo 10 µl de solución amortiguadora de lavado de la botella de lavado al pozo 2. Deje que fluya la solución amortiguadora de lavado a través de la tubería del lavador. Pipeteo 10 µl de la solución amortiguadora de lavado de la tubería en el pozo 3. Obtenga una parte alícuota del agua usada para preparar la solución amortiguadora de lavado. Pipeteo 10 µl del agua en el pozo 4. Incluye 20-25° C por 15 minutos. Evite la luz solar directa. Lea los micropozos en el luminómetro. 	<ul style="list-style-type: none"> El control del reactivo de detección 2 (pozo 1) deberá ser < 50 URL. Compare el valor de URL de los pozos 2, 3 y 4 con el valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores de URL individuales para los pozos 2, 3 y 4 no deberán exceder 50 URL del valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores que excedan 50 URL del control del reactivo de detección 2 indican contaminación. Vaseo Preparación y almacenamiento de reactivos para instrucciones sobre la limpieza y mantenimiento del aparato de lavado.
<p>Lavador de piezas automatizado</p>	<ul style="list-style-type: none"> Pipeteo 75 µl del reactivo de detección 2 en cinco micropozos de captura separados. Etiquete los pozos 1-5. El pozo 1 sirve como el control del reactivo de detección 2. Pipeteo 10 µl de la solución amortiguadora de lavado de la botella del lavador de piezas etiquetada Wash (lavado) en el pozo 2. Pipeteo 10 µl del líquido de enjuague de la botella del lavador de piezas etiquetada Rinse (enjuague) en el pozo 	<ul style="list-style-type: none"> El control del reactivo de detección 2 (pozo 1) deberá ser < 50 URL. Compare el valor de URL de los pozos 2, 3, 4 y 5 con el valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores de URL individuales para los pozos 2, 3, 4 y 5 no deberán exceder 50 URL del valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1).

<ul style="list-style-type: none"> Presione la tecla Prima (Inicio) en el teclado del lavador de piezas, permitiendo que fluya la solución amortiguadora de lavado a través de las líneas. Pipeteo 10 µl de la solución amortiguadora de lavado de la fosa al pozo 4. Presione la tecla Rinse (enjuague) en el teclado del lavador de piezas, permitiendo que fluya el líquido de enjuague a través de las líneas. Pipeteo 10 µl de la solución amortiguadora de lavado de la fosa al pozo 5. Cubre e incluye 15 minutos a 20-25° C. Evite la luz solar directa. Lea los micropozos en el luminómetro. 	<ul style="list-style-type: none"> Los valores que excedan 50 URL del control del reactivo de detección 2 indican contaminación del lavador de piezas. Vaseo el Manual del operador del lavador de piezas automatizado, procedimiento de descontaminación.
---	--

INFORMACIÓN DE CONTACTO

Use la hoja de información de contacto de QIAGEN proporcionada con el producto para ponerse en contacto con Servicios Técnicos de QIAGEN o su representante de QIAGEN local.

MARCAS REGISTRADAS Y PATENTES

QIAGEN®, diana®, Hybrid Capture®, Rapid Capture® (QIAGEN Group); Paraffin® (GENAS Company, Inc.); DuraSeal® (Diversified Biotech); Eppendorf®, Repaster® (Eppendorf AG); Kemena® (Kemena-Clark Corporation); CDP-Star® (Life Technologies Corporation); pGEM® (Promega Corp).

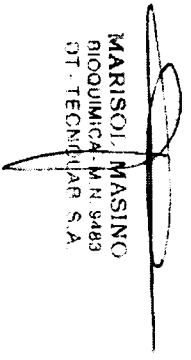
Los nombres registrados, las marcas comerciales registradas, etc. usados en este documento, incluyen cuando no estén marcados específicamente como tales, deben considerarse protegidos por la ley.

Este producto y su método de uso están cubiertos por una o más de las siguientes patentes:

Patente de Hybrid Capture de EE.UU.

8,228,578

© 2012-2015 QIAGEN, todos los derechos reservados.



MARISOL MASINO
BICOQUIMICA S.A. N.º 9483
OT. TECNOLÓGICO S.A.

Resumen de la prueba de ADN «digene» HC2 CT/GC DNA Test
 Importante: es importante estar familiarizado completamente con el procedimiento detallado antes de usar el resumen.

Procedimiento	Método de verificación manual	Método automático de lectura de resultados
Descontaminación	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Cree la distribución de placas. ▶ Etiquete la placa de hibridación. ▶ Prepare el reactivo de desnaturalización. ▶ Pipete el reactivo de desnaturalización (el volumen es equivalente a la mitad del volumen del espécimen) en calibradores, contenedores de calidad y etiquetados. Coloque un vértice cónico calibrador, control de calidad y espécimen de forma individual por cinco segundos o otra velocidad (véase el prospecto para detalles). ▶ Verifique que todos los tubos muestran un color púrpuro. ▶ Incube a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos. ▶ Prepare la mezcla de sonda de CT/GC. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Cree la distribución de placas. ▶ Etiquete la placa de hibridación. ▶ Prepare el reactivo de desnaturalización. ▶ Pipete el reactivo de desnaturalización (el volumen es equivalente a la mitad del volumen de espécimen) en calibradores, contenedores de calidad y etiquetados. ▶ Verifique que todos los tubos muestran un color púrpuro. ▶ Coloque la broca con gelada y tapa. ▶ Coloque en vortex por 10 segundos. ▶ Incube a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos. ▶ Prepare la mezcla de sonda de CT/GC.
Hibridación	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Coloque en vortex los calibradores, controles de calidad y especímenes desnaturalizados bien, luego pase 75 µl en el microplaca apropiado. ▶ Cubra la microplaca con una tapa para placas e incube por 10 ± 2 minutos a 20/25° C. ▶ Pipete 25 µl de la mezcla de sonda de CT/GC en la microplaca. ▶ Cubra la microplaca con una tapa para placas y agite en el agitador giratorio 1 a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Verifique que todos los pozos muestran un color amarillo. ▶ Incube a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos. Prepare la microplaca de captura. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Coloque en vortex los calibradores, controles de calidad y especímenes desnaturalizados bien, luego pase 75 µl en el microplaca apropiado. ▶ Cubra la microplaca con una tapa para placas e incube por 10 ± 2 minutos a 20/25° C. ▶ Pipete 25 µl de la mezcla de sonda de CT/GC en la microplaca. ▶ Cubra la microplaca con una tapa para placas y agite en el agitador giratorio 1 a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Verifique que todos los pozos muestran un color amarillo. ▶ Incube a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos. Prepare la microplaca de captura.
Hybrid Capture (epidemiología)	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Rose el contenido de cada pozo de placa de hibridación al pozo correspondiente en la microplaca de captura usando una pipeta de ocho canales. ▶ Cubra con una tapa para placas. Agite a 1100 ± 100 rpm o 20/25° C por 60 ± 5 minutos. ▶ Prepare la solución amortiguadora de lavado. ▶ Decante y seque la microplaca de captura (véase el prospecto para detalles). ▶ Pipete 75 µl del reactivo de detección 1 en cada pozo de la microplaca de captura. Cubra la microplaca de captura con una tapa para placas e incube a 20/25° C por 30/45 minutos. Lave la placa usando el método descrito. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Rose el contenido de cada pozo de placa de hibridación al pozo correspondiente en la microplaca de captura usando una pipeta de ocho canales. ▶ Cubra con una tapa para placas. ▶ Prepare la solución amortiguadora de lavado. ▶ Decante y seque la microplaca de captura (véase el prospecto para detalles). ▶ Pipete 75 µl del reactivo de detección 1 en cada pozo de la microplaca de captura. Cubra la microplaca de captura con una tapa para placas e incube a 20/25° C por 30/45 minutos. Lave la placa usando el método descrito.
Detección (método)	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Pipete 75 µl del reactivo de detección 2 en cada pozo de la microplaca de captura. ▶ Incube a 20/25° C por 15/30 minutos. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Pipete 75 µl del reactivo de detección 2 en cada pozo de la microplaca de captura. ▶ Cubra la microplaca con una tapa para placas o Fورتيفيا limpio. ▶ Incube a 20/25° C por 15/30 minutos.
Lavado	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Machea manual de lavado. ▶ Decante y seque la microplaca de captura (véase el prospecto para detalles). ▶ Lave seis veces. ▶ Seque en vacíos de papel de poco padding. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Machea de lavado automatizado de placas. ▶ Coloque la placa en el lavador automatizado de placas y presione START/STOP. ▶ Lave/seque para comenzar. ▶ Vaya a la siguiente etapa.
Amplificación de ácidos nucleicos	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Pipete 75 µl del reactivo de detección 2 en cada pozo de la microplaca de captura. ▶ Cubra la microplaca con una tapa para placas o Fورتيفيا limpio. ▶ Incube a 20/25° C por 15/30 minutos. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Pipete 75 µl del reactivo de detección 2 en cada pozo de la microplaca de captura en el lavador automatizado de placas. ▶ Cubra la microplaca con una tapa para placas o Fورتيفيا limpio. ▶ Incube a 20/25° C por 15/30 minutos.
Lectura	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Lave la microplaca de captura en el lavador automatizado de placas. ▶ Vuelva al ensayo e integre los resultados del espécimen. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Lave la microplaca de captura en el lavador automatizado de placas. ▶ Vuelva al ensayo e integre los resultados del espécimen.



Sample & Assay Technologies



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2018-02408183-APN-DNPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Lunes 15 de Enero de 2018

Referencia: 1-47-3110-982-17-7

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 34 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=MINISTERIO DE MODERNIZACION,
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2018.01.15 15:30:06 -0300

Mariano Pablo Manenti
Jefe I
Dirección Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -
GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,
o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE
MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT
30715117564
Date: 2018.01.15 15:30:12 -0300