



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

**Disposición**

**Número:**

**Referencia:** 1-47-3110-6346/17-9

---

VISTO el expediente N° 1-47-3110-6346/17-9 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOARS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso in vitro denominados: **STI Multiplex Array II (Sexually Transmitted Infection (STI) Multiplex Array II)**.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

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

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

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

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

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE

## MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

### DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) de los productos médicos para diagnóstico de uso in vitro denominados: **STI Multiplex Array II (Sexually Transmitted Infection (STI) Multiplex Array II)**, de acuerdo con lo solicitado por la firma BIOARS S.A., con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N°IF-2020-10255977-APN-INPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM-1127-307”, con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

### DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

Nombre comercial: **STI Multiplex Array II (Sexually Transmitted Infection (STI) Multiplex Array II)**.

Indicación de uso: Ensayo cualitativo utilizado para la detección simultánea de 10 infecciones de transmisión sexual frecuente a partir de muestras de orina o de hisopados urogenitales. Esta prueba está prevista para su uso en el entorno clínico como un DIV para asistir en el diagnóstico de infecciones de transmisión sexual de pacientes sintomáticos y asintomáticos. Los patógenos detectados son: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Treponema pallidum*, Virus del herpes simple I, Virus del herpes simple II, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* y *Haemophilus ducreyi*.

Forma de presentación: Envases por 108 determinaciones, conteniendo:

#### **Parte A:**

MEZCLA DE REACCION STI (STI RM): 2 Viales de 250µL.

MEZCLA CEBADORA DE STI II (STI II PM): 2 Viales de 250 µ

AGUA DE CALIDAD MOLECULAR (WATER): 1.5 ml.

ANTICONTAMINANTE (ANTI-CONTAM): 24 µ

**Parte B:**

BIOCHIP DE STI (BIOCHIP DE STI II): 12 transportadores/18 biochip.

TAMPON DE HIBRIDACION (HYB BUFF): 30 ml.

CONJUGADO STI (STI CONJ): 30 ml.

TAMPON DE LAVADO CONCENTRADO (BUF WASH CONC): 15 ml.

REACTIVO DE SEÑAL DE LUMINOL (LUM-EV805): 2 Viales de 15 ml.

REACTIVO DE SEÑAL DE PEROXIDO (PX): 2 Viales de 15 ml.

PAPEL DE ALUMINIO SELLADOR ADHESIVO (FOIL): Para 12 transportadores.

Período de vida útil y condición de conservación: 12 (DOCE) meses, desde la fecha de elaboración conservado a  $\leq 20^{\circ}\text{C}$  (Parte A) y  $+2\text{-}+8^{\circ}\text{C}$ .

Nombre y dirección del fabricante: Radox Laboratories Ltd, 55 Diamond Road, Crumlin, BT29 4QY, Reino Unido.

Condición de Venta/Categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Nº Expediente Nº 1-47-3110-6346-17-9

AM



# PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

## STI Multiplex Array II

### Parte A

#### Etiqueta de la caja

**RANDOX**  
evidence investigator™

**STI Multiplex Array II**

Seegene  
Under license from Seegene Inc.  
(Patent No EP6716196.8 and US 11/817838)

IVD

≤ -20°C

RANDOX LABORATORIES LTD.  
55 Diamond Road,  
Crumlin, County Antrim,  
BT29 4QY United Kingdom

REF EV3950A  
▽ 108 BIOCHIPS  
LOT ???????  
???????

CE  
0120

?????????????????????

Tel: +44 (0) 28 9442 2413 Fax: +44 (0) 28 9445 2912

### Parte B

#### Etiqueta de la caja

evidence investigator™

**STI Multiplex Array II**

CE  
0120

2°C | 8°C

IVD

REF EV3950B  
▽ 108 BIOCHIPS  
WARNING LOT ???????  
???????

?????????????????????

Establecimiento Elaborador: Randox Laboratories Ltd, 55 Diamond Road, Crumlin, BT29 4QY, Reino Unido  
 Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.  
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028  
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. PM-1127-307

STI Multiplex Array II, Randox

*Claudia Etchevés*  
 BIOARS S.A.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVÉS  
 DIRECTOR TECNICO

F

# PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS



## STI Multiplex Array II

### Parte A

<p><b>MEZCLA DE REACCIÓN STI (STI RM)</b></p> <p><b>RANDOX</b>evidence investigator™ STI Multiplex Array STI RM</p> <p>250µl REF EV3950A LOT: ??????? EXP: ???????</p> <p>≤-20°C</p> <p>IVD</p>	<p><b>MEZCLA CEBADORA DE STI II (STI II PM)</b></p> <p><b>RANDOX</b>evidence investigator™ STI Multiplex Array STI II PM</p> <p>250µl REF EV3950A LOT: ??????? EXP: ???????</p> <p>≤-20°C</p> <p>IVD</p>
<p><b>AGUA DE CALIDAD MOLECULAR (WATER)</b></p> <p><b>RANDOX</b>evidence investigator™ STI Multiplex Array WATER</p> <p>1.5ml REF EV3950A LOT: ??????? EXP: ???????</p> <p>≤-20°C</p> <p>IVD</p>	<p><b>ANTICONTAMINANTE (ANTI-CONTAM)</b></p> <p><b>RANDOX</b>evidence investigator™ STI Multiplex Array ANTI-CONTAM</p> <p>24µl REF EV3950A LOT: ??????? EXP: ???????</p> <p>≤-20°C</p> <p>IVD</p>

### Parte B

<p><b>BIOCHIP DE STI II (BIOCHIP DE STI II)</b></p> <p><b>RANDOX</b>evidence investigator™ STI II BIOCHIP</p> <p>2°C/8°C</p> <p>REF EV3950B LOT: 9 BIOCHIPS EXP: ???????</p> <p>IVD</p>	<p><b>TAMPÓN DE HIBRIDACIÓN (HYB BUFF)</b></p> <p><b>RANDOX</b>evidence investigator™ STI Multiplex Array HYB BUFF</p> <p>30ml REF EV3950B LOT: ??????? EXP: ???????</p> <p>2°C/8°C</p> <p>IVD</p>
<p><b>CONJUGADO STI (STI CONJ)</b></p> <p><b>RANDOX</b>evidence investigator™ STI CONJ</p> <p>REF EV3950B LOT: ??????? EXP: ???????</p> <p>30ml</p> <p>2°C/8°C</p> <p>IVD</p>	<p><b>TAMPÓN DE LAVADO CONCENTRADO (BUF WASH CONC)</b></p> <p><b>RANDOX</b>evidence investigator™ BUF WASH conc.</p> <p>15ml REF EV3950B LOT: ??????? EXP: ???????</p> <p>2°C/8°C</p> <p>IVD</p>
<b>Reactivos de Señal</b>	
<b>LUMINOL (LUM-EV805)</b>	<b>PERÓXIDO (PX)</b>

STI Multiplex Array II, Randox

*[Handwritten Signature]*

BIOARS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TECNICO







# Sexually Transmitted Infection (STI) Multiplex Array II

## EV3950

### Manual del usuario

Para usar junto con:

Termociclador (Randox Laboratories Ltd., n.º de catálogo EV3951)

Analizador Evidence Investigator™ (Randox Laboratories Ltd., n.º de catálogo EV3602)

*Claudia Echeverri*  
BIOQUÍMICA S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVERRI  
DIRECTOR TÉCNICA



**Contenido**

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
A. Uso previsto	3
B. Medidas de seguridad y advertencias	3
C. Limitaciones	4
D. Recolección y almacenamiento de muestras	4
E. Composición del reactivo	5
F. Importancia clínica	6
G. Principios y procedimiento	8
<b>II. COMPONENTES DEL KIT</b>	<b>8</b>
A. Componentes del kit y almacenamiento (guía de etiquetado)	8
B. Estabilidad y preparación de los reactivos	9
<b>III. PASOS PRELIMINARES</b>	<b>9</b>
A. Recomendaciones para una técnica exenta de contaminantes	9
B. Equipos y materiales de laboratorio adicionales requeridos	10
<b>IV. PROCEDIMIENTO</b>	<b>10</b>
A. Descripción general	10
B. Requisitos de tiempo	10
C. Protocolo	12
1. Purificación de ADN de frotis de orina o urogenitales	12
2. Ampliación de Multiplex PCR	12
3. Hibridación del array de biochip	13
4. Procesamiento de imágenes y resultados	14
<b>V. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO</b>	<b>15</b>
<b>VI. GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS</b>	<b>22</b>
<b>VII. REFERENCIAS</b>	<b>23</b>
<b>VIII. APÉNDICE</b>	<b>23</b>

BIOARS S.A.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVERRI  
 DIRECTOR TÉCNICO



## I. INTRODUCCIÓN

### A. Uso previsto

El Evidence Investigator™ STI Multiplex Array II es un ensayo cualitativo utilizado para la detección simultánea de 10 infecciones de transmisión sexual frecuentes a partir de muestras de orina o de frotis urogenitales. Esta prueba está prevista para su uso en el entorno clínico como un DIV para asistir en el diagnóstico de infecciones de transmisión sexual de pacientes sintomáticos y asintomáticos. La capacidad multiplex del array garantiza que todos los patógenos presentes dentro de una muestra clínica se pueden detectar, lo que permite la administración del tratamiento adecuado de manera oportuna. Los patógenos detectados se enumeran en la tabla a continuación.

Patógenos detectables	Abreviaturas
<i>Chlamydia trachomatis</i>	CT
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	NG
<i>Trichomonas vaginalis</i>	TV
<i>Treponema pallidum</i>	TP
Virus del herpes simple I	VHS1
Virus del herpes simple II	VHS2
<i>Mycoplasma hominis</i>	MH
<i>Mycoplasma genitalium</i>	MG
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	UU
<i>Haemophilus ducreyi</i>	HD

El dispositivo está configurado para el uso junto con el termociclador (Randox Laboratories Ltd., n.º de catálogo EV3951) y el analizador Evidence Investigator™ (Randox Laboratories Ltd., n.º de catálogo EV3602).

### B. Medidas de seguridad y advertencias

- Para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Todas las muestras de frotis de orina y urogenitales se deben manipular y tratar como si fueran posiblemente infecciosas. Solo se debe permitir que el personal capacitado en la manipulación de materiales infecciosos realice este procedimiento de diagnóstico.
- Se deben etiquetar los envases y tubos de tal manera que se pueda garantizar la identificación correcta del paciente.
- Se deben utilizar guantes desechables, batas de laboratorio y protección para los ojos cuando se realiza el ensayo. Lávese las manos de manera exhaustiva después de la manipulación de muestras y reactivos. Cámbiese los guantes si entran en contacto con la muestra para evitar la contaminación de otras muestras.
- Se deben descontaminar las superficies, las pipetas y los equipos con solución para descontaminación de ADN disponible comercialmente (p. ej., DNA Remover Cambio Ltd., n.º de catálogo DNA-1000). Se recomienda limpiar las áreas de trabajo y las pipetas de manera diaria.
- Se recomiendan encarecidamente puntas de filtro exentas de ADN, DNasa, RNasa certificadas para todas las etapas del ensayo. Se deben utilizar pipetas separadas para las etapas de purificación de ADN de muestra, ampliación e hibridación.
- Se recomienda un área exclusiva para la hibridación de array de biochip (paso 3 del protocolo del ensayo) para reducir el riesgo de contaminación cruzada por ampliación. Esta área debe estar separada de las áreas de purificación de ADN de la muestra y de ampliación.
- Para que las áreas del laboratorio no se contaminen con ADN ampliado, se debe organizar el laboratorio con un flujo de trabajo unidireccional. Por ejemplo, proceda desde el área de manipulación y purificación de la muestra al área de ampliación PCR y luego al área de hibridación de array de biochip. No se deben devolver muestras, equipos, reactivos, etc. a un área en la que se realizó un paso anterior.
- Evite la exposición del reactivo de señal a la luz solar directa.
- **Precaución: Las superficies del termoagitador se pueden calentar durante el uso.**
- Almacene los kits y los reactivos según lo indicado en la etiqueta del producto.
- No use un kit ni un reactivo después de su fecha de vencimiento. No intercambie ni mezcle reactivos del ensayo de kits con distintos números de lote.
- Descarte los desechos de muestra y del ensayo según las normas de seguridad locales aplicables.
- Las hojas de datos sobre seguridad de los materiales están disponibles si se solicitan.

*[Handwritten Signature]*  
 BIOARS S.A.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEV  
 DIRECTOR TÉCNICO



## C. Limitaciones

- El STI Multiplex Array II está previsto para el uso en el entorno clínico como un DIV para asistir en el diagnóstico de infecciones de transmisión sexual. Los resultados de esta prueba se deben interpretar junto con los antecedentes médicos, los signos y los síntomas clínicos del paciente y, si corresponde, con los resultados de otras pruebas de diagnóstico.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de que existan patógenos STI en la muestra a un nivel por debajo de la sensibilidad del ensayo o que exista un patógeno que este ensayo no detecta.
- Los resultados del ensayo se pueden ver afectados por la extracción y el transporte de la muestra, la variabilidad del muestreo, los errores procedimentales de laboratorio, los inhibidores y la identificación errónea de la muestra. La presencia de sangre, mucosidad, agentes espermicidas, polvo femenino, rocíos y tratamientos para afecciones vaginales (como infecciones por hongos) puede interferir con este ensayo. No se han hallado interferencias para las sustancias evaluadas en la concentración probada (consulte la sección V, características de rendimiento).
- El STI Multiplex Array II no detecta variantes de *C. trachomatis*, exentas de plásmidos.
- Se ha demostrado que *N. lactamica* tiene una reacción cruzada en la prueba con el STI Multiplex Array II (consulte la sección V, Características de rendimiento). En entornos en los que los signos, los síntomas y los factores de riesgo clínicos de un paciente no son coherentes con una infección gonocócica, se deben evaluar los resultados positivos con cuidado y se debe analizar al paciente mediante otros métodos, si corresponde.
- El rendimiento del ensayo depende de la capacidad del operador y del cumplimiento de las instrucciones procedimentales. El personal adecuadamente capacitado debe realizar el análisis.

## D. Recolección y almacenamiento de muestras

Este kit se ha optimizado para la detección de patógenos STI tanto en la orina como en frotis urogenitales. Si van a producir una muestra de orina, los pacientes no deben orinar durante al menos 2 horas antes de la recolección. El muestreo de orina se debe realizar preferentemente mediante la recolección de la primera orina de la mañana. Las muestras de orina y de frotis se deben colocar de +2 °C a +8 °C lo antes posible después de la recolección y se las puede almacenar a esta temperatura durante hasta 1 semana o más si se las añade al medio de transporte (consulte la hoja de datos del fabricante). Los tubos de recolección/transporte no se suministran con el kit del STI Multiplex Array II; no obstante, la prueba es adecuada para el uso con muestras recolectadas y transportadas mediante diversos dispositivos de recolección y conservación preanalíticos, incluidos el kit de muestra de orina Cobas PCR y el kit de muestra de frotis femenino Cobas PCR (Roche), el kit eNAT™ (Copan), el kit de transporte conservante de orina BD ProbeTec (BD) y las muestras endocervicales, vaginales y uretrales recolectadas en tubos diluyentes de frotis Q\* (BD). El ADN purificado se debe almacenar a ≤-20 °C. Los tipos de frotis validados para el ensayo incluyen frotis genitales masculinos, frotis genitales femeninos (vaginales, de la vulva, de los labios y endocervicales) y frotis rectales.

*Claudia Etcheves*  
 BIOARS S.Á.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
 DIRECTOR TÉCNICO





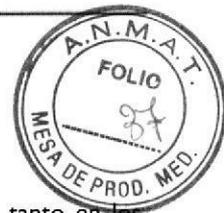
## E. Composición del reactivo

- **MEZCLA DE REACCIÓN STI**  
Mezcla de reacción con polimerasa *Taq*, tampones y dNTP (tapa roja)
- **MEZCLA CEBADORA DE STI II \***  
Contiene una mezcla de cebadores STI para los 10 patógenos más control de extracción/ampliación (tapa azul)
- **AGUA DE CALIDAD MOLECULAR**  
Agua destilada exenta de DNasa/RNasa (tapa transparente)
- **ANTICONTAMINANTE**  
Glicosilasa uracilo-ADN (tapa verde)
- **BIOCHIP DE STI II**  
Sustrato sólido con sondas específicas del objetivo inmovilizadas, envueltas en papel de aluminio de manera individual
- **TAMPÓN DE HIBRIDACIÓN**  
Tampón con fosfato de sodio de solución salina EDTA (SSPE) (30 % de v/v 20X SSPE) con detergente y conservantes
- **CONJUGADO STI**  
Estreptavidina marcada con peroxidasa de rábano (0,01 % de v/v)  
0 %-0,5 % de 2-cloroacetamida  
  
Advertencia sensibilización de la piel I: H317: puede ocasionar una reacción alérgica en la piel
- **TAMPÓN DE LAVADO CONCENTRADO**  
Tampón con base Tris (0,6 M) con detergente y conservantes  
0 %-0,5 % de 2-cloroacetamida  
  
Advertencia sensibilización de la piel I: H317: puede ocasionar una reacción alérgica en la piel
- **REACTIVO DE SEÑAL DE LUMINOL**  
Solución de luminol (0,1 % de p/v)
- **REACTIVO DE SEÑAL DE PERÓXIDO**  
Solución de peróxido (0,1 % de p/v)
- **PAPEL DE ALUMINIO SELLADOR ADHESIVO**  
Papel de aluminio adhesivo individual para el sellado de transportadores de biochip

\* Con licencia de Seegene Inc. (n.º de patente EP6716196.8 y EE. UU. 11/817838)



  
BIOARS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TECNICO



## F. Importancia clínica

### Antecedentes

Las STI y las complicaciones relacionadas con STI representan un problema de salud pública importante tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se enferman aproximadamente 500 millones de personas en todo el mundo con sífilis, gonorrea, clamidia o tricomoniasis <sup>(1)</sup>. Las secuelas crónicas de las STI incluyen una discapacidad a largo plazo y la muerte, pero también pueden ocasionar disminución de la fertilidad, aumento en la mortalidad de los lactantes y de los niños, y aumento en las tasas de transmisión del virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

### *Chlamydia trachomatis* (CT)

*Chlamydia trachomatis* es la causa bacteriana más frecuente de las STI, con cálculos que indican que se produjeron 105,7 millones de infecciones con clamidia en todo el mundo en 2008 <sup>(2)</sup>. Las infecciones con clamidia a menudo son asintomáticas, con aproximadamente el 70 % de las infecciones en las mujeres y el 50 % en los hombres sin síntomas evidentes <sup>(3)</sup>. Debido a su posible naturaleza subclínica, esta infección puede persistir sin diagnóstico durante meses e incluso años, lo que aumenta su tasa de transmisión. Aunque frecuentemente es asintomática, si se la deja sin tratar la infección a menudo ocasiona complicaciones graves, como enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), la que puede disminuir la fertilidad o aumentar los riesgos de embarazo ectópico. En los hombres, las infecciones con clamidia asintomáticas a menudo se manifiestan como uretritis, pero también pueden ocasionar epididimitis o prostatitis y, por lo tanto, aumentar el riesgo de esterilidad.

### *Neisseria gonorrhoeae* (NG)

En 2010, el Centro para el Control de Enfermedades (CDC) calculó que más de 300 000 individuos en los Estados Unidos de América tuvieron un resultado positivo para *Neisseria gonorrhoeae*. Aunque no es tan común como la clamidia, la infección con gonorrea puede ocasionar complicaciones similares, como EIP y embarazo ectópico. En los hombres, la gonorrea está relacionada con la uretritis y la epididimitis y, como ocurre con la clamidia, la infección con gonorrea con frecuencia es asintomática tanto en hombres como en mujeres. De manera reciente, se ha informado resistencia a la quinolona, un antibiótico recetado con frecuencia, en varias poblaciones <sup>(4)</sup>.

### Virus del herpes simple I/II (VHS1/VHS2)

Aunque el virus del herpes simple I (VHS1) y el virus del herpes simple II (VHS2) pueden ocasionar infecciones genitales, el VHS2 ocasiona la gran mayoría de los casos. En 2012, se calculó que 417 millones de personas de 15 a 49 años de edad estaban infectadas con VHS2 en todo el mundo <sup>(5)</sup>. La infección inicial con VHS generalmente ocasiona ampollas o lesiones sobre los genitales, el recto o la boca o alrededor de estos, las cuales pueden durar varias semanas. Muchos individuos infectados con VHS1 o VHS2 son, no obstante, asintomáticos o tienen síntomas muy leves que pasan inadvertidos. Se puede producir una diseminación viral en presencia (herpes sintomático) o en ausencia (herpes asintomático) de síntomas y, como resultado, las personas que no saben que tienen el virus transmiten la mayoría de las infecciones con herpes genitales. Aunque la infección se puede volver latente sin manifestaciones clínicas, los brotes recurrentes son frecuentes debido a que el virus durará dentro del individuo durante toda la vida. Sin embargo, los síntomas de los brotes recurrentes son generalmente más cortos y menos graves que los del primer brote. Las recurrencias son mucho menos frecuentes para la infección con VHS1 genital que para la infección con VHS2 genital <sup>(6)</sup>. Una de las consecuencias más graves de la infección con VHS para la salud es el aumento en el riesgo de adquirir el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) <sup>(7)</sup>.

### *Treponema pallidum* (TP)

*Treponema pallidum* es el agente causante de la sífilis. La Organización Mundial de la Salud (OMS) calculó 10,6 millones de casos nuevos de sífilis en todo el mundo en 2008 <sup>(2)</sup>. La enfermedad progresa en etapas y puede ocasionar una amplia variedad de complicaciones, tales como lesiones y erupciones en la piel y, si se la deja sin tratar, surgirán complicaciones neurales y cardiovasculares importantes. De manera adicional, la infección con sífilis también aumenta el riesgo de transmisión del VIH entre individuos. Aunque la sífilis se transmite a través del contacto sexual, con frecuencia se transmite al niño por nacer ocasionando sífilis congénita, tasas altas de nacimientos de niños muertos y aumento en la incidencia de mortalidad de los lactantes. De las mujeres con sífilis activa durante el embarazo, el 69 % tendrá un desenlace adverso <sup>(8)</sup>. A pesar de las graves consecuencias de la enfermedad, si se la detecta temprano con técnicas basadas en PCR, la sífilis se puede tratar con eficacia.

*[Handwritten Signature]*  
 BIOARKS S.A.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVEA  
 DIRECTOR TÉCNICO



**Mycoplasma hominis (MH)**

Existen discusiones sobre si *Mycoplasma hominis* es una verdadera STI o posiblemente un componente de la flora normal de las mujeres sexualmente activas<sup>(9)</sup>. Sin importar su estado, *M. hominis* ha formado parte de una variedad de complicaciones, como vaginosis bacteriana (VB) y uretritis y, en mujeres embarazadas, también puede tener un papel en el parto prematuro, la ruptura prematura de las membranas fetales y la fiebre posparto<sup>(10)</sup>. Debido a que las micoplasmas no poseen una pared celular, no se ven afectadas por muchos antibióticos recetados con frecuencia que están dirigidos a la síntesis de la pared celular, tales como los betalactámicos; por lo tanto, la identificación correcta del agente etiológico de la infección es crítica. Dado que las micoplasmas son bacterias fastidiosas y notoriamente difíciles de cultivar, las pruebas basadas en PCR siguen siendo el método de detección más conveniente.

**Mycoplasma genitalium (MG)**

*Mycoplasma genitalium* es una bacteria que infecta las membranas mucosas de la uretra, el cuello del útero, la garganta y el ano. Se la ha involucrado con la uretritis no gonocócica (UNG) en los hombres y con la uretritis, la cervicitis, la salpingitis y la enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) en las mujeres<sup>(11-12)</sup>. De manera reciente, se han informado vínculos entre MG y desenlaces adversos del embarazo<sup>(9)</sup>.

**Ureaplasma urealyticum (UU)**

*Ureaplasma urealyticum* se puede encontrar en el tracto reproductivo de las mujeres sin síntomas clínicos; no obstante, la colonización de ureaplasma se ha asociado con la esterilidad, el nacimiento de niños muertos, el parto prematuro y la ruptura prematura de las membranas fetales<sup>(10)</sup>.

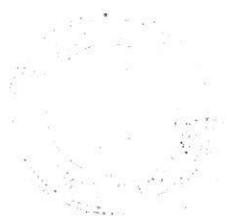
**Haemophilus ducreyi (HD)**

*Haemophilus ducreyi* es el agente causante de la enfermedad de transmisión sexual chancroide. Aunque no es frecuente en los países desarrollados, se calcula que, en todo el mundo, se producen 7 millones de casos de chancroide anualmente<sup>(13)</sup>. Después de un período de incubación de 2 a 7 días, la infección se manifiesta como una lesión de la piel levantada que se ulcerará en el plazo de varios días de la primera aparición. De manera significativa, las úlceras causadas por *H. ducreyi* pueden facilitar la transmisión de VIH; esto se ve reflejado en la asociación geográfica cercana entre las áreas de ocurrencia alta de chancroide y la infección con VIH<sup>(14)</sup>.

**Trichomonas vaginalis (TV)**

El parásito *Trichomonas vaginalis* ocasiona tricomoniasis, una enfermedad que casi siempre se transmite mediante el contacto sexual. El TV infecta con más frecuencia el tracto genital inferior en las mujeres (vulva, vagina o uretra) y la uretra en los hombres. En las mujeres, los síntomas habituales son una descarga espumosa amarilla o verdosa que tiene un aroma desagradable, picazón e irritación de la piel de la vulva y dolor al orinar, aunque la infección también puede ser asintomática<sup>(15)</sup>. Debido a que los síntomas pueden ser sinónimos con otras STI, no se puede confiar solamente en la presentación clínica para el diagnóstico. La tricomoniasis está asociada con secuelas reproductivas adversas que incluyen nacimientos prematuros y enfermedad inflamatoria pélvica en las mujeres, esterilidad en las mujeres y en los hombres<sup>(16)</sup> y puede ocasionar un aumento en el riesgo de transmisión del VIH<sup>(17)</sup>.

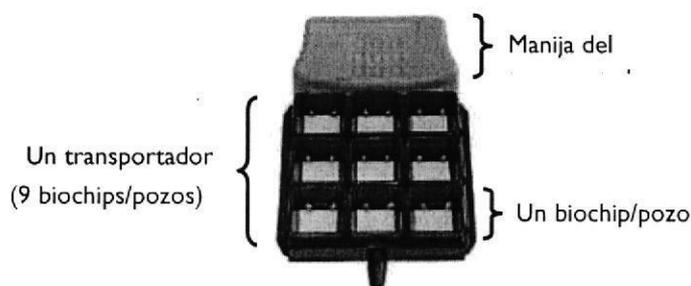
*[Handwritten Signature]*  
 BIOARKS S.A.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVE  
 DIRECTOR TECNICO





## G. Principios y procedimiento

El STI Multiplex Array II es una prueba de ampliación de ácido nucleico rápida para la detección cualitativa de 10 patógenos de STI diferentes de manera simultánea a partir de una sola muestra de orina o de frotis urogenital. El array está basado en una combinación de multiplex PCR, hibridación de sonda y quimioluminiscencia. Los reactivos de purificación de ácido nucleico no se suministran con el kit; no obstante, se ha realizado el ensayo con éxito mediante ADN purificado con procedimientos manuales (minikit de ADN en sangre QIAamp, Qiagen, n.º de catálogo 51106) y automatizados, incluidos el kit de virus/patógeno QIASymphony DSP en el instrumento QIASymphony SP (Qiagen), el kit MagNA Pure 96 DNA y Viral NA SV (Roche, n.º de catálogo 06543588001) en el instrumento MagNA Pure 96 (Roche), el kit de ADN en sangre Maxwell® 16 LEV (Promega, n.º de catálogo ASI290) en el instrumento Maxwell® 16 (Promega), el sistema cobas® 4800 (Roche) y el sistema en tiempo real m2000 (Abbott). En todos los casos, se siguieron las instrucciones del fabricante. El ADN purificado se amplía con Multiplex PCR; si existen patógenos de STI dentro de la muestra, se amplían los genes objetivo a niveles detectables. Se agrega ADN ampliado al biochip, lo que permite que las secuencias del gen objetivo se hibriden a sondas complementarias detectadas en regiones de prueba discretas (DTR) específicas de la superficie del Biochip. Luego se realiza una imagen del biochip en el Evidence Investigator™, donde el software incorporado identifica la presencia de patógenos STI dentro de la muestra. Un control de extracción (EC) está incorporado en el array y confirma la purificación exitosa del ácido nucleico de muestra y la ampliación de PCR.



## II. COMPONENTES DEL KIT

### A. Componentes del kit y almacenamiento (guía de etiquetado)

El STI Multiplex Biochip Array II (parte A) se debe almacenar a  $\leq -20$  °C al momento de llegada. Póngase en contacto con [technical.services@randox.com](mailto:technical.services@randox.com) si los reactivos no están congelados al momento de llegada. El STI Multiplex Biochip Array II (parte B) se debe almacenar de +2 °C a +8 °C al momento de llegada.

#### Parte A (EV3950A) ( $\leq -20$ °C)

Componente del kit	Abreviatura	Código del producto	Volumen suministrado	Almacenamiento
Mezcla de reacción STI	STI RM	ST500	2 x 250 $\mu$ l	$\leq -20$ °C
Mezcla cebadora de STI II	STI II PM	ST645	2 x 250 $\mu$ l	$\leq -20$ °C
Anticontaminante	ANTICONTAM	EV903	24 $\mu$ l	$\leq -20$ °C
Agua de calidad molecular	AGUA	EV872	1,5 ml	$\leq -20$ °C

#### Parte B (EV3950B) (de +2 °C a +8 °C)

Componente del kit	Abreviatura	Código del producto	Volumen suministrado	Almacenamiento
Biochip de STI II	BIOCHIP DE STI II	ST646	12 transportadores/108 biochips	+2 °C a +8 °C
Tampón de hibridación	HYB BUFF	EV873	30 ml	+2 °C a +8 °C
Tampón de lavado	BUF WASH CONC	EA001	15 ml	+2 °C a +8 °C
Conjugado STI	STI CONJ	ST502	30 ml	+2 °C a +8 °C
Reactivo de señal de luminol	LUM-EV805	EV805	2 x 15 ml	+2 °C a +8 °C
Reactivo de señal de peróxido	PX	EV700	2 x 15 ml	+2 °C a +8 °C
Papel de aluminio sellador adhesivo	FOIL	EV876	Para 12 transportadores	+2 °C a +8 °C



## B. Estabilidad y preparación de los reactivos

### Componentes del ensayo a $\leq -20$ °C

En el primer uso, todos los componentes a  $\leq -20$  °C se deben equilibrar a temperatura ambiente y, después de la mezcla y del centrifugado breve, se deben realizar alícuotas según el rendimiento anticipado del laboratorio para evitar ciclos de congelamiento o descongelamiento excesivos. Estos reactivos se han analizado por hasta 5 ciclos de congelamiento o descongelamiento y se los puede almacenar de +2 °C a +8 °C durante hasta 1 semana sin pérdida de actividad. Los reactivos son estables hasta la fecha de vencimiento establecida cuando se almacenan según lo recomendado.

### Componentes del ensayo de +2 °C a +8 °C

Todos los componentes de +2 °C a +8 °C se deben equilibrar a temperatura ambiente antes de su uso. No congele. Los reactivos son estables hasta la fecha de vencimiento establecida cuando se almacenan según lo recomendado.

### BIOCHIP DE STI II

Se incluyen 12 transportadores envueltos en papel de aluminio de manera individual por kit. Cada transportador contiene 9 biochips idénticos y se suministra con una manija para facilitar la manipulación del ensayo y la identificación de la muestra. Los biochips son estables hasta la fecha de vencimiento cuando se los almacena sin abrir de +2 °C a +8 °C. No se pueden reutilizar los biochips y, una vez abiertos, se los debe ensayar de inmediato.

### Tampón de lavado

El tampón de lavado se suministra concentrado (BUF WASH CONC) y requiere dilución antes de su uso. Prepare el tampón de lavado según la cantidad de transportadores para procesar, con una proporción de 8 ml de concentrado de tampón de lavado respecto de 242 ml de agua doble desionizada. El tampón con concentración de trabajo es estable durante 1 mes cuando se lo almacena de +2 °C a +8 °C.

### Conjugado STI

La solución conjugada está lista para su uso y es estable hasta la fecha de vencimiento cuando se la almacena de +2 °C a +8 °C, protegida de la luz. No congele la solución conjugada.

### LUM-EV805/PX

El reactivo de señal consta de dos componentes, LUM-EV805 (2 x 15 ml) y PX (2 x 15 ml) y se debe mezclar en una proporción de 1:1 para proporcionar un reactivo de señal con concentración de trabajo. Un transportador requerirá un volumen total de 2,25 ml de reactivo de señal con concentración de trabajo; por lo tanto, se agregan 1,125 ml de LUM-EV805 a 1,125 ml de PX. Dispense el volumen requerido de cada componente de señal, **más un exceso del 10 %**, en un vial opaco limpio con pipetas de plástico estériles y desechables. **Se debe tener cuidado de evitar la contaminación cuando se manipulan reactivos.** Se recomienda que el componente LUM-EV805 se agregue al componente PX. Mezcle los componentes mediante la inversión del vial varias veces antes de su uso. Proteja al componente LUM-EV805 y al reactivo de señal con concentración de trabajo de la luz. El reactivo de señal con concentración de trabajo es estable durante 4 horas a temperatura ambiente.

## III. PASOS PRELIMINARES

### A. Recomendaciones para una técnica exenta de contaminantes

Debido a la naturaleza exponencial de la ampliación lograda con PCR, siempre existe un riesgo probable de que se produzca una contaminación de bajo nivel cuando se manipula el objetivo ampliado o el molde de control positivo. En un esfuerzo para minimizar el riesgo de contaminación que se produce, todas las reacciones PCR se deben preparar en un área separada de la manipulación posterior a PCR de la muestra. Para reducir la contaminación cruzada se recomienda el uso de recipientes, soluciones y pipetas (incluidas las puntas de los filtros) para preparación de ADN, mezcla de reacción y análisis de muestra exentos de ácido nucleico certificados. Se deben limpiar todas las superficies de trabajo, las pipetas y los bastidores del tubo para microcentrifugadora con solución de descontaminación de ADN disponible comercialmente (por ejemplo, DNA Remover Cambio Ltd., n.º de catálogo DNA-1000). También se recomienda un área exclusiva para la hibridación del array de biochip de ampliaciones de PCR (paso 3 del protocolo del ensayo) para reducir la contaminación. Esta área debe estar separada de las áreas de purificación de ADN de la muestra y de ampliación. También se deben utilizar pipetas separadas para las etapas de purificación de ADN, ampliación e hibridación del ensayo.

BIOARS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TÉCNICO



**Equipo de laboratorio adicional requerido**

**Equipo**

- Termociclador: Randox Laboratories, n.º de catálogo EV3951 (incluido en el empaque molecular de Evidence Investigator).
- Evidence Investigator™: Randox Laboratories Ltd., n.º de catálogo EV3602 (incluido en el empaque molecular de Evidence Investigator).
- Termoagitador: Randox Laboratories Ltd., n.º de catálogo EV700-997 (dos incluidos en el empaque molecular de Evidence Investigator)
- Soporte del transportador: Randox Laboratories Ltd., n.º de catálogo EVI00-535 (dos incluidos en el empaque molecular de Evidence Investigator)
- Microcentrifugadora capaz de soportar tubos para microcentrifugadora de 0,2 ml, 0,5 ml y 1,5 ml
- Pipeta de 0,5-10 µl
- Pipeta de 5-50 µl
- Pipeta de 20-200 µl
- Pipeta de 200-1000 µl
- Mezclador por vórtice
- Baño de hielo o bloque frío

**Materiales**

- Puntas de filtro de pipeta (exentas de ADN, DNasa y RNasa)
- Tubos para microcentrifugadora de 0,2 ml, 0,5 ml y 1,5 ml (exentos de ADN, DNasa y RNasa)
- Papel de seda exento de pelusas (opcional)

**IV. PROCEDIMIENTO**

**A. Descripción general**

El STI Multiplex Biochip Array II Evidence Investigator™ se utiliza para la detección de 10 patógenos diferentes a partir de una muestra. El ensayo usa 4 etapas separadas para detectar patógenos STI en frotis de orina o urogenitales:

1. Purificación de ADN de la muestra adecuada
2. Ampliación multiplex PCR (incluido el paso de anticontaminación)
3. Hibridación del array de biochip
4. Procesamiento de imágenes y resultados

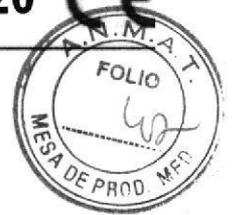
Consulte el diagrama en la siguiente página para obtener una descripción general completa del ensayo.

**B. Requisitos de tiempo**

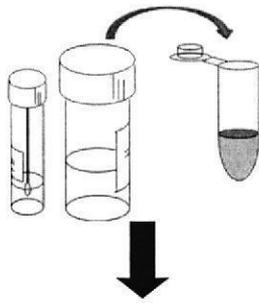
Después de la purificación de ADN, es posible procesar 108 muestras del paciente (2 ciclos de 6 transportadores) en un solo día laboral. Luego se pueden hibridar las muestras al biochip y procesar las imágenes. En la siguiente tabla, se proporciona una indicación sobre el tiempo que debe tomar cada una de las etapas.

Paso	Requisitos de tiempo
Ampliación de ADN	3 horas
Hibridación de sondas del array	2.5 horas
Imágenes y procesamiento	4 min/bastidor (9 muestras)

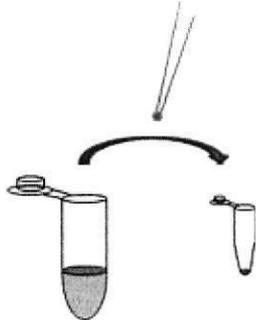
*Claudia Etcheves*  
 BIOARKS S.A.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
 DIRECTOR TECNICO



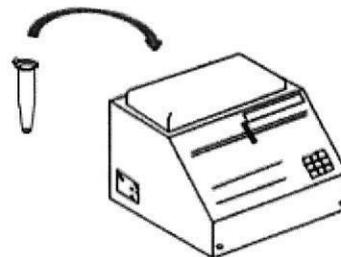
Descripción general del procedimiento



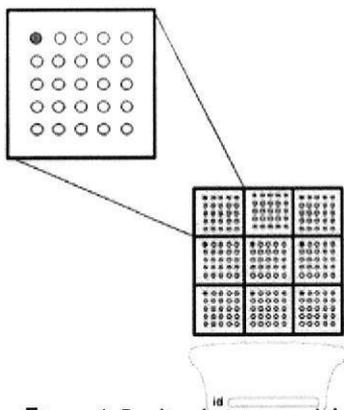
Etapa 1: Extraiga el ADN del frotis o de la muestra de orina con el kit adecuado.



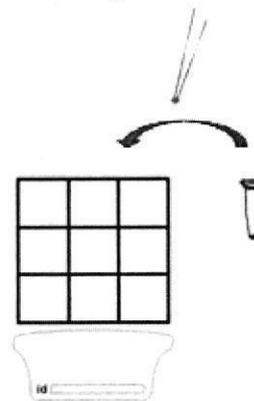
Etapa 2: Agregue 6 µl de ADN de muestra al tubo de reacción.



Agregue los tubos de reacción al termociclador y realice PCR.



Etapa 4: Realice la imagen del transportador del biochip con Evidence Investigator.™



Etapa 3: Desnaturalice y agregue producto ampliado al biochip.

*Claudia Etcheves*

BIOARS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TÉCNICO



## C. Protocolo

### Puntos importantes antes de comenzar

- Lea todas las instrucciones antes de realizar el procedimiento. Consulte el prospecto del kit de recolección de muestras correspondiente para obtener instrucciones de recolección.
- Asegúrese de que está familiarizado con la operación y el mantenimiento del instrumento Investigator™. Consulte el Manual del usuario que se suministra con su instrumento.

### I. Purificación de ADN de frotis de orina o urogenitales

#### Notas importantes antes de comenzar este paso

- Todas las muestras de frotis de orina y urogenitales se deben manipular y tratar como si fueran posiblemente infecciosas. Se deben utilizar guantes desechables, batas de laboratorio y protección para los ojos. Si procesa las muestras de manera manual, se recomienda el uso de un gabinete para bioseguridad.
- Las pipetas utilizadas para este paso deben ser exclusivas para el uso. Se recomienda encarecidamente el uso de puntas del filtro.
- Se deben etiquetar todos los tubos de manera correcta para permitir la identificación de la muestra.
- Se debe tener cuidado al manipular muestras para evitar la contaminación cruzada. Abra los tubos de muestra con cuidado y cámbiese los guantes si entran en contacto con la muestra para evitar la contaminación de otras muestras.
- Extraiga ADN de una muestra o de un frotis de orina con un volumen de 200 a 500 µl.
- El kit del STI Multiplex Array II ha utilizado con éxito ADN purificado mediante los procedimientos de purificación manuales de Qiagen y los sistemas de purificación automatizados de Roche, Qiagen y Promega sobre frotis de orina o urogenitales. Se recomienda que el ADN se purifique según las instrucciones del fabricante. No obstante, se recomienda que el ADN se eluya en 50 µl de agua exenta de nucleasas (pH ≥7) o en el tampón de elución del fabricante (siempre que esto no interfiera con la aplicación PCR descendente) para concentrar la muestra. **Lea de manera exhaustiva el protocolo de purificación del fabricante antes de comenzar.**

DETE

*Este es un posible punto de detención. En este punto, se puede almacenar el ADN a ≤-20°C si se desea.*

### 2. Ampliación de Multiplex PCR

#### Notas importantes antes de comenzar este paso

- Las pipetas utilizadas para este paso deben ser exclusivas para el uso. También está muy recomendado el uso de puntas del filtro.
- Se deben etiquetar todos los tubos de manera correcta para permitir la identificación de la muestra.
- Se debe tener cuidado al manipular muestras para evitar la contaminación cruzada.
- Permita que los reactivos PCR se descongelen por completo a temperatura ambiente antes de configurar las reacciones.
- Centrifugue brevemente los reactivos PCR para recolectar contenidos y garantizar la recuperación completa de los reactivos proporcionados.

Para cada purificación de ADN, agregue los siguientes componentes para Multiplex PCR.

Componente	Volumen
Mezcla de reacción STI	4.0 µl
Mezcla cebadora de STI II	4.0 µl
Anticontaminante	0.2 µl
Agua de calidad molecular	5.8 µl
Molde de ADN	6.0 µl

Se recomienda preparar una mezcla maestra para reducir la pérdida del reactivo y permitir un pipeteado exacto. La mezcla maestra se debe preparar según se indica más arriba para la cantidad adecuada de reacciones, se la debe mezclar brevemente con vórtice y luego se la debe centrifugar para recolectar los reactivos en la parte inferior del tubo. Para cada reacción se deben dispensar 14 µl de mezcla maestra preparada a tubos PCR de 0,2 ml de pared fina y se deben agregar 6 µl de ADN de muestra/molde. **Agregue ADN molde en un área exclusiva, lejos de la preparación de reacciones multiplex PCR para reducir la contaminación del ensayo.** También se debe incluir un control PCR negativo (reemplace el ADN molde con agua de calidad molecular) en el análisis.

Realice vórtice y centrifugue las reacciones brevemente y colóquelas en un termociclador con una tapa calentada configurada entre +100 °C y +110 °C.



**Condiciones de realización de ciclos:**

Paso	Temperatura (°C)	Tiempo	Cantidad de ciclos
Descontaminación	+20	5 min	1
	+50	10 min	
Desnaturalización	+95	30 s	40
Templado	+63	90 s	
Extensión	+72	90 s	
Extensión final	+72	10 min	

Las reacciones se pueden almacenar a +4 °C durante hasta 1 semana antes de realizar la hibridación del array de biochip, si se necesita. Para el almacenamiento de más largo plazo se recomienda una temperatura de ≤-20 °C.

**DETE**

*Este es un posible punto de detención. En este punto, se pueden almacenar los productos PCR a +4°C si se desea.*

### 3. Hibridación del array de biochip

**Notas importantes antes de comenzar este paso**

- Este paso se debe realizar en un área exclusiva, separada de las áreas de purificación y ampliación de ADN para reducir la contaminación.
- Las pipetas utilizadas para este paso no se deben utilizar para la purificación de ADN o para los protocolos PCR antes de este paso.
- La hibridación se realiza a +60 °C y la conjugación a +37 °C y requiere dos termoagitadores Evidence Investigator™. Se recomienda que cada termoagitador se equilibre a la temperatura requerida de 15 a 30 minutos antes de su uso. El tampón de hibridación, el tampón de lavado, el conjugado y los reactivos de señal también se deben equilibrar a temperatura ambiente aproximadamente de 15 a 30 minutos antes de su uso.
- El tampón de lavado se suministra como un concentrado (BUF WASH CONC.) y requiere **dilución antes de su uso**. Prepare el tampón de lavado según la cantidad de transportadores para procesar, con una proporción de 8 ml de concentrado de tampón de lavado respecto de 242 ml de agua doble desionizada. El tampón con concentración de trabajo es estable durante una semana a temperatura ambiente o un mes cuando se lo almacena de +2 °C a +8 °C.

**Precaución: La abrazadera y el tornillo del termoagitador se calentarán durante la hibridación a +60 °C. Manipule con cuidado.**

- Equilibre la cantidad requerida de transportadores de biochip y reacciones PCR a analizar a temperatura ambiente. Retire los transportadores de sus empaques y etiquete cada uno para su uso. Coloque la bandeja de manipulación suministrada con la unidad del termoagitador Evidence Investigator™ sobre la superficie de trabajo. Inserte cada transportador en la bandeja de manipulación, asegurándose de que estén planos y fijos al escuchar un clic cuando entran en posición. Todo el muestreo, las adiciones de reactivos, el lavado y las incubaciones se realizan con la bandeja de manipulación con los transportadores solamente retirados para la etapa de adición de la señal final y de diagnóstico por imágenes del procedimiento.
- Agregue 250 µl de tampón de hibridación a cada pozo de biochip a analizar y realice una hibridación previa durante 10 minutos a +60 °C en el termoagitador.
- Durante la hibridación previa, desnaturalice cada reacción PCR +95 °C durante 5 minutos con un termociclador. Retire las reacciones de inmediato después de la desnaturalización y colóquelas sobre hielo para evitar que se vuelvan a templar. Se recomienda encarecidamente tratar el control PCR negativo de la misma manera y que se lo analice sobre el biochip.
- Agregue 2 µl de las reacciones PCR desnaturalizadas en cada pozo de biochip (un pozo por muestra), con cuidado de no tocar la superficie del biochip. Selle los transportadores con papel de aluminio sellador adhesivo garantizando que el transportador esté completamente cubierto para evitar la evaporación de reactivos durante el proceso de hibridación.





- e. Asegure la bandeja de manipulación a la placa base del termoagitador a +60 °C e incube durante 1 hora a 370 rpm.
- f. Retire la bandeja de manipulación del termoagitador. Retire con cuidado el papel de aluminio sellador de cada transportador y descarte la reacción de hibridación como desecho mediante una acción de golpe fuerte.
- g. Agregue 250 µl de tampón de lavado diluido (consulte la sección de estabilidad y preparación de los reactivos) a cada biochip/pozo, coloque la bandeja de manipulación en un termoagitador a +37 °C e incube a 370 rpm durante 2 minutos. Retire de la bandeja de manipulación, dé un golpe suave para liberar todo reactivo atrapado debajo del biochip y golpee para desechar con una acción fuerte. Garantice que se retire todo líquido en exceso de cada pozo de biochip con más golpes fuertes de los transportadores en la bandeja de manipulación.

**Nota: Durante los pasos de lavado, tenga cuidado de no sobrellenar los pozos de biochip a fin de reducir la contaminación entre pozos.**

- h. Repita el paso g.
- i. Agregue 250 µl de conjugado equilibrado por biochip/pozo. Asegure la bandeja de manipulación a la placa base del termoagitador a +37 °C e incube durante 1 hora a 370 rpm.
- j. Después de la incubación, retire la bandeja de manipulación y descarte el conjugado como desecho mediante una acción de golpe fuerte.
- k. Realice dos ciclos de lavado de 2 minutos con tampón de lavado diluido en un termoagitador a +37 °C a 370 rpm. Siga este paso con dos ciclos de lavado de 2 minutos con agua doble destilada. Descarte el líquido como desecho mediante una acción de golpe fuerte entre cada lavado.
- l. Vuelva a llenar los pozos del transportador con agua destilada (con cuidado de no llenar demasiado) hasta el momento de las imágenes. No se deben dejar los transportadores durante más de 30 minutos antes del procesamiento.
- m. El reactivo de señal se prepara mediante la adición de 1 parte de LUM-EV805 con 1 parte de PX para producir un reactivo de señal con concentración de trabajo. El volumen total de reactivo de señal de trabajo requerido se debe calcular primero (permitiendo 250 µl de reactivo de señal con concentración de trabajo por chip). **Por ejemplo:** Un transportador requiere un volumen total de 2,25 ml de reactivo de señal con concentración de trabajo; por lo tanto, se agregan 1,125 ml de LUM-EV805 a 1,125 ml de PX.
- n. Los transportadores se procesan de manera individual. Directamente antes de la adición de la señal, retire el primer transportador para diagnosticar por la imagen de la bandeja de manipulación y descarte el agua destilada como desecho. Golpee con suavidad el transportador a un papel de seda exento de pelusas para retirar todo líquido residual; sin embargo, no toque la superficie del biochip con el papel de seda. Agregue 250 µl de reactivo de señal con concentración de trabajo a cada pozo, cubra el transportador para protegerlo de la luz e incube durante 2 minutos (+/-10 segundos) a temperatura ambiente; se recomienda el uso de un temporizador para garantizar que las imágenes se producen en el momento correcto.
- o. Después de la incubación, coloque el transportador en el Evidence Investigator™; la captura de imágenes comenzará de manera automática según lo definido por el software exclusivo.

**Nota: No descarte el reactivo de señal antes de insertar el transportador en el Evidence Investigator.™**

#### 4. Procesamiento de imágenes y resultados

Para más detalles sobre toma de imágenes y procesamiento de resultados, referirse al Apéndice B del Manual del Operador de Evidence Investigator™ en el Suplemento de Análisis Molecular. Cabe tener en cuenta que la función EC requiere la presencia de ADN genómico humano para determinar el logro de la purificación/amplificación de ácido nucleico. Para muestras que no contienen ADN genómico humano (EQA, controles de muestra simulada), utilizar la función "Muestra QC" (QC sample) para crear una lista de trabajo en el Evidence Investigator™, como se indica en el Manual del Operador de Evidence Investigator™ en el Apéndice B del Suplemento de Análisis Molecular.

*Handwritten signature*

## V. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

### Sensibilidad analítica (límite de detección)

Se estableció la sensibilidad analítica para el STI Multiplex Array II a través de la determinación de los límites de detección (LoD). El LoD para cada objetivo, expresado en copias/prueba, se determinó mediante diluciones de aislados de ADN genómico cuantificados (consulte la Tabla I).



Tabla I. Límite de detección (LoD) del STI Multiplex Array II

Objetivo	copias/prueba†
CT	4
VHS2	58
TP	40
NG	10
TV	30
VHS1	9
MH	64
MG	87
HD	190
UU	46

† 6 µl/prueba

### Especificidad analítica

Se garantizó principalmente la especificidad del STI Multiplex Array II mediante la selección de los cebadores y las sondas para todos los organismos objetivo. Estos se han verificado en busca de homologías posibles respecto de todas las secuencias publicadas en las bases de datos de genes (por ejemplo, Blast v2.0).

Para confirmar la detección de todos los serotipos de *Chlamydia trachomatis* descritos públicamente, se analizaron distintos cultivos. Estos tuvieron la forma de paneles de QCMD (Control de Calidad para Diagnóstico Molecular) (Q-Nostics, RU) y cultivos obtenidos de ATCC. En los paneles de QCMD, se detectaron serotipos LGV, los agentes causantes de *Lymphogranuloma venereum*, junto con serotipos no LGV y la variante sueca de la clamidia. El STI Multiplex Array II también se expuso con aislados clínicos y paneles de QCMD para *Neisseria gonorrhoeae* y VHS1/2. Se detectaron todas las cepas disponibles.

En la siguiente lista, se resumen las cepas de CT, NG y VHS analizadas e identificadas de manera positiva.

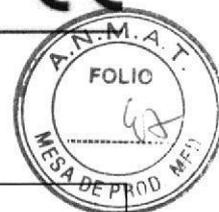
- Chlamydia trachomatis* LGV – QCMD
- Chlamydia trachomatis* L2 (LGV) – QCMD
- Chlamydia trachomatis* de serotipo F (no LGV) - QCMD
- Chlamydia trachomatis* de variante sueca (plásmido nvCT pSW2) - QCMD
- Chlamydia trachomatis* de serotipo D (UW-3/Cx) - ATCC
- Chlamydia trachomatis* de serotipo E (BOUR) - ATCC
- Lymphogranuloma venereum* – LGVII (434) – ATCC
- Neisseria gonorrhoeae* de cepa 49226 – QCMD
- Neisseria gonorrhoeae* de nivel Ng porA – QCMD
- Neisseria gonorrhoeae* DSM-9188 (ATCC 19424) – DSMZ
- Virus del herpes simple 1 95/1906 – QCMD
- Virus del herpes simple 1 MacIntyre – QCMD
- Virus del herpes simple 2 09-15681 – QCMD
- Virus del herpes simple 2 MS – QCMD

También se alcanzó la confirmación de la especificidad del array con oligonucleótidos complementarios del array y objetivos sintéticos generados.

Se evaluó la ausencia de reacción cruzada contra un panel de 115 cepas bacterianas, 8 cepas fúngicas, 1 cepa protozoica y 21 cepas virales, incluidos organismos que están relacionados de manera filogénica con los objetivos en el array, organismos de la flora normal que pueden estar presentes de manera concurrente en la muestra y organismos que causan estados de enfermedad similares. Se agregó ADN purificado directamente en la reacción PCR mediante al menos  $10^4$  copias de ADN genómico por prueba para bacterias y hongos (equivalente a  $10^6$  copias/ml) y  $10^3$  copias de ADN genómico por prueba o más para los virus (equivalente a  $10^5$  copias/ml).

Los aislados de *Neisseria lactamica* tuvieron un resultado positivo para *Neisseria gonorrhoeae*. Sin embargo, esta especie es un comensal de la nasofaringe, especialmente de niños pequeños, y no se encuentra con frecuencia en áreas objetivo en las que las infecciones de transmisión sexual colonizarían.

BIOARS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TÉCNICO



No se observaron resultados falso positivo para ninguno de los organismos en la siguiente tabla.

**Tabla 2. Especificidad analítica**

<i>Achromobacter denitrificans</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i> (2)	<i>Haemophilus influenzae</i> (4)	<i>Neisseria sicca</i>
<i>Acinetobacter zwoffii</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	Parainfluenza 1
Adenovirus	Virus de la hepatitis B (VHB) (2)	Parainfluenza 2
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	Virus del herpes humano de tipo 6 (HBLV/HHV-6)	Parainfluenza 3
<i>Aeromonas viridans</i>	Virus del papiloma humano 16	Parainfluenza 4
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Virus del papiloma humano 18	<i>Pasteurella multocida</i>
<i>Atopobium vaginae</i>	Influenza A H1	<i>Prevotella bivia</i>
<i>Bacillus cereus</i>	Influenza A H3	<i>Prevotella oralis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Gripe A H5	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bordetella parapertussis</i> (2)	<i>Klebsiella oxytoca</i> (2)	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bordetella pertussis</i> (2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (3)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2)
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Burkholderia multivorans</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	Virus sincicial respiratorio (subtipo A)
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus garvieae</i>	Virus sincicial respiratorio (subtipo B)
<i>Candida albicans</i> (2)	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Salmonella enterica</i> (2)
<i>Candida glabrata</i> (2)	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Lactobacillus</i> spp. (3)	<i>Serratia marcescens</i> (2)
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Legionella longbeachae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shingobacterium spiritivorum</i>
<i>Chamydophila psittaci</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA (3)
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (MecA-) (3)
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Clostridium difficile</i> (2)	<i>Mobiluncus mulieris</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (2)
<i>Clostridium perfringens</i> (2)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Neisseria cinerea</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
Citomegalovirus (CMV/HHV-5) (2)	<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (2)
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo 29E	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i> (3)	<i>Neisseria meningitidis</i> de Serogrupo A (2)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i> (2)	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo B	<i>Streptococcus parasanguinis</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo C	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (2)
<i>Enterococcus faecalis</i> (2)	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo W135	<i>Streptococcus pyogenes</i> (2)
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo X	<i>Ureaplasma parvum</i>
Virus de Epstein-Barr (VEB/HHV-4)	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo Y	Virus de varicela zóster (VZV/HHV-3) (3)
<i>Escherichia coli</i> (2)	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo Z	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia coli</i> (2)	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo Z	<i>Yersinia enterocolitica</i>

(n) representa la cantidad de cepas analizadas

*Claudia Echeves*  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
 DIRECTOR TECNICO



**Interferencia**

Se evaluó el rendimiento del STI Multiplex Array II en presencia de sustancias que pueden estar presentes en una muestra clínica típica y que tienen el potencial de interferir con la ampliación del ácido nucleico o de inhibirla. Estas sustancias pueden surgir de fuentes endógenas (por ejemplo, hemoglobina, bilirrubina) o exógenas (por ejemplo, cremas, polvos de venta libre).

Para este estudio, se analizó la sangre, la glucosa, la albúmina, la bilirrubina, la acidez y la alcalinidad en muestras de orina, mientras que se analizaron polvos, rocíos y tratamientos femeninos (cremas/geles) en frotis. Las sustancias endógenas se analizaron a la concentración más alta esperada en muestras clínicas.

Las sustancias se analizaron en muestras de orina o frotis agrupados que se conoce que son negativos para CT. Las mismas muestras se enriquecieron con un cultivo de CT y además se analizaron con las sustancias de posible interferencia y sin estas. Se realizaron reacciones por triplicado para cada condición. En la Tabla 3, se enumeran las sustancias analizadas, las concentraciones utilizadas y la matriz de la muestra.

A las concentraciones analizadas, no se observó que ninguna de las sustancias evaluadas tuviera un efecto negativo sobre el rendimiento del STI Multiplex Array II.

**Tabla 3. Sustancias de interferencia posible analizadas**

Matriz de la	Sustancia analizada	Concentración
Orina	Sangre	5 % de v/v
	Leucocitos	1x10 <sup>6</sup> células/ml
	Albúmina (proteína)	3 mg/ml
	Glucosa	10 mg/ml
	Antibióticos (amikacina/gentamicina)	60 µg/ml
	Bilirrubina (directa)	0.2 mg/ml
	Acidez	pH 4
	Alcalinidad	pH 9
Frotis	Sangre	5 % de v/v
	Crema para herpes labial Galpharm (5 % de aciclovir)	2 %
	Crema para hongos con clotrimazol (1 %)	2 %
	Crema contra la picazón Vagisil (2 % de lidocaína)	2 %
	Lubricante KY	2 %
	Polvo desodorante Vagisil	2 %
	Lavado íntimo diario Femfresh	2 %
	Desodorante para frescura femenina Femfresh	2 %

**Precisión y Reproducibilidad**

Se realizó la determinación de la precisión para el STI Multiplex Array II para establecer una concordancia entre una serie de determinaciones obtenidas a partir del muestreo múltiple de la misma muestra homogénea dentro del ciclo analítico (dentro del ensayo) o sobre varios ciclos (entre ensayos). Se realizó un análisis de precisión en los 10 objetivos.

Se evaluó la precisión dentro del ensayo para el STI Multiplex Array II mediante el análisis de 16 reacciones duplicadas de material de CC multianalitos y dos controles negativos dentro de un ciclo analítico. Se realizó el análisis con dos lotes de reactivos. El material de CC multianalitos se preparó a partir de controles de ADN genómico disponibles comercialmente (controles de ampliación de ADN AmpliRun; Vircell, España). Este material se utilizó en lugar del molde para el paso de ampliación de multiplex PCR. Se utilizó agua de calidad molecular en lugar del molde para las reacciones de control sin molde (NTC). Los resultados del estudio demostraron una tasa de concordancia del 99 % para todos los analitos del ensayo para las reacciones positivas y el 100 % de resultados negativos correctos para todos los analitos del ensayo en los duplicados de reacción PCR negativos. Se muestra un resumen de los resultados en la Tabla 4.

*[Handwritten signature]*



**Tabla 4. Precisión dentro del ensayo**

Objetivos	Lote 1		Lote 2	
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
CT	15/16	2/2	15/16	2/2
VHS2	16/16	2/2	16/16	2/2
TP	16/16	2/2	16/16	2/2
NG	16/16	2/2	15/16	2/2
TV	16/16	2/2	16/16	2/2
VHS1	16/16	2/2	16/16	2/2
MH	16/16	2/2	16/16	2/2
MG	16/16	2/2	16/16	2/2
HD	16/16	2/2	16/16	2/2
UU	16/16	2/2	16/16	2/2
% de concordancia global	99	100	99	100

Neg. = 2 indica que no se detectaron objetivos para 2 de 2 reacciones de control negativo, según lo esperado. Los resultados Pos. están expresados como la cantidad de reacciones positivas detectadas de 16 reacciones realizadas con un material de CC multianálitos de bajo nivel.

Porcentaje de concordancia = cantidad de resultados positivos/cantidad de resultados totales x 100

Se evaluó la precisión entre ensayos para el STI Multiplex Array II mediante el análisis de 8 reacciones duplicadas positivas de un material de CC multianálitos de bajo nivel (preparado según se describe con anterioridad) y un control negativo en 10 ciclos separados. Se utilizó material de CC multianálitos y agua de calidad molecular en lugar del molde para el paso de ampliación de multiplex PCR. Se realizó el análisis con dos lotes de reactivos. Los resultados del estudio demostraron una tasa de concordancia del  $\geq 98\%$  entre todos los análisis del ensayo para las reacciones positivas y el 100% de resultados negativos correctos para todos los análisis del ensayo en los duplicados de reacción PCR negativos. Se muestra un resumen de los resultados en la Tabla 5.

**Tabla 5. Precisión entre ensayos**

Ciclo	Lote 1 % de concordancia global	Lote 2 % de concordancia global
Ciclo 1	100%	98%
Ciclo 2	100%	98%
Ciclo 3	100%	99%
Ciclo 4	100%	100%
Ciclo 5	99%	99%
Ciclo 6	100%	99%
Ciclo 7	98%	100%
Ciclo 8	100%	98%
Ciclo 9	100%	99%
Ciclo 10	100%	98%
Sin control molde	100%	100%

Se evaluó la reproducibilidad del STI Multiplex Array II entre los operadores, los lotes de reactivos y los instrumentos mediante el análisis de 8 reacciones duplicadas de material de CC multianálitos de bajo nivel y un control negativo. El material de CC multianálitos se preparó a partir de controles de ADN genómico disponibles comercialmente (controles de ampliación de ADN AmpliRun; Vircell, España). Se utilizó material de CC multianálitos y agua de calidad molecular en lugar del molde para el paso de ampliación de multiplex PCR. Dos operadores con dos conjuntos de instrumentos y dos lotes de reactivo realizaron el análisis. Los duplicados se clasificaron como Positivo o Negativo. Los resultados demostraron una tasa de concordancia de  $\geq 97\%$  para cada objetivo para las reacciones positivas entre todas las condiciones analizadas (de A a D en la Tabla 6), con una tasa de concordancia global del 99% para todos los objetivos. No hubo resultados falso positivo para las reacciones de control negativo que ocasionaran un puntaje de resultado negativo del 100% (consulte la Tabla 6).

BIOARD S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVE  
DIRECTOR TÉCNICO



**Tabla 6. Reproducibilidad**

Objetivos	Cant. de duplicados	A	B	P	D	% de concordancia
CT	8	8	8	8	8	100
VHS2	8	8	8	8	8	100
TP	8	8	8	8	8	100
NG	8	8	8	8	8	100
TV	8	8	8	8	7	97
VHS1	8	8	8	8	8	100
MH	8	8	8	8	8	100
MG	8	8	8	8	8	100
HD	8	8	8	8	8	100
UU	8	8	8	8	8	100
% de concordancia global		100	100	100	100	99
NTC	1	1	1	1	1	100

A = operador

- I; instrumento 1; lote de reactivos 1
- B = operador 2; instrumento 1; lote de reactivos 1
- C = operador 1; instrumento 2; lote de reactivos 1
- D = operador 1; instrumento 1; lote de reactivos 2

### Sensibilidad y especificidad

Se determinó la sensibilidad y la especificidad para el STI Multiplex Array II mediante la comparación con ensayos de PCR TaqMan en tiempo real (qRT-PCR) realizados en un laboratorio de diagnóstico de referencia. Para este estudio se analizó un total de 869 muestras, que constaron de todas las matrices estipuladas (frotis genitales masculinos, frotis genitales femeninos [de la vagina, de la vulva, de los labios y endocervicales] y frotis rectales). Se purificó el ADN de las muestras con el sistema de purificación de ácido nucleico MagNa Pure 96 o el sistema cobas® 4800 (Roche). Se analizaron muestras para hasta 9 de los 10 organismo infecciosos incluidos en el ensayo del STI Multiplex Array II mediante qRT-PCR individual (no estaba disponible un ensayo TaqMan para HD\*); las infecciones con clamidia y gonorrea se analizaron con el sistema Cobas 4800 CT/NG con marca CE. En incidencias de sospechas de infecciones con *Trichomonas vaginalis* (TV), se realizaron qPCR, microscopía en fresco o cultivos específicos, por lo que estos representaron los métodos comparativos para este patógeno. Se procesaron las mismas muestras con el STI Multiplex Array II y se compararon los resultados.

La concordancia con el método de referencia para cada objetivo se indica mediante la concordancia, que se expresa como una proporción de resultados clasificados de manera correcta (verdaderos positivos + verdaderos negativos) entre el total de las muestras analizadas (verdaderos positivos + verdaderos negativos + falsos positivos + falsos negativos). Esta fue superior al 90 % para todos los objetivos y del 100 % para los objetivos clave de CT, NG y TP (consulte la Tabla 7).

También se calcularon los valores de predicción positivos y negativos para describir más el rendimiento del STI Multiplex Array II. El valor de predicción positivo (PPV) se define como la probabilidad de que la infección esté presente cuando la prueba es positiva, mientras que el valor de predicción negativo (NPV) es la probabilidad de que la infección no esté presente cuando la prueba es negativa. A diferencia de la sensibilidad y la especificidad, el PPV y el NPV dependen de la población que se analiza y están influenciados por la prevalencia de la enfermedad. El valor PPV bajo observado para TV (63 %), NG (73 %) y MG (75 %) refleja la baja prevalencia de estos objetivos para este estudio (2,7 %, 1,0 % y 3,4 % respectivamente).

Las pruebas de chi cuadrado ( $\chi^2$ ) y exacta de Fisher se utilizaron para confirmar que los resultados no surjan solamente por casualidad, lo que proporciona valores p significativos para ambas pruebas de menos de 0,001.

\*Nota: Aunque no estaba disponible un ensayo comparativo para *Haemophilus ducreyi*, se evaluó la sensibilidad y la especificidad para este objetivo mediante la exposición del ensayo con varias cepas de HD (NCI10945, NCI1482, NCI11616). Todas las cepas se identificaron de manera correcta y se confirmó la ausencia de reactividad cruzada con los demás objetivos.

BIOARKS S.R.L.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TÉCNICO

**Tabla 7. Datos de sensibilidad y especificidad**

	Verdadero o positivo	Falso positivo	Verdadero o negativo	Falso negativo	Muestras totales	Concordancia (%)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Chi cuadrado	Chi cuadrado sig.	Fisher sig.	PPV (%)	NPV (%)	Prevalencia (%)
CT*	37	0	735	0	772	100	100	100	20.086	0.0001	0.001	100	100	4.8
NG	8	3	761	0	772	100	100	100	60.936	0.0001	0.001	73	100	1.0
VHS1	69	10	229	0	308	97	100	96	49.182	0.0001	0.001	87	100	22.4
VHS2	42	17	250	0	309	94	100	94	4.374	0.0001	0.001	71	100	13.6
TP	11	0	243	0	254	100	100	100	7.869	0.0001	0.001	100	100	4.3
TV	5	3	175	0	183	98	100	98	9.424	0.0001	0.001	63	100	2.7
MH	71	20	287	0	378	95	100	93	30.555	0.0001	0.001	78	100	18.8
MG	12	4	338	1	355	99	92	99	15.107	0.0001	0.001	75	100	3.4
UU	110	15	247	0	372	96	100	94	146.659	0.0001	0.001	88	100	29.6

\* Se eliminó 1 muestra de CT discordante del análisis debido a que no quedaba material suficiente para repetirla con un ensayo alternativo.

BIOARKS S.A.  
 BIOO. CLAUDIA FTOCHEVA  
 DIRECTOR TÉCNICO





Los resultados de sensibilidad y especificidad se estratificaron por sexo y tipo de muestra. Los datos del análisis por sexo se resumen en las Tablas 8 y 9.

**Tabla 8. Sensibilidad y especificidad para muestras de orina y frotis masculinos**

Muestras de orina y frotis masculinos (n = 577)

	Verdadero positivo	Falso positivo	Verdadero negativo	Falso negativo	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Concordancia (%)	Muestras totales
CT*	23	0	514	0	100	100	100	537
NG	6	1	530	0	100	100	100	537
VHS1	22	3	116	0	100	97	98	141
VHS2	20	3	119	0	100	98	98	142
TP	11	0	118	0	100	100	100	129
TV	0	3	82	0	-	96	96	85
MH	30	8	264	0	100	97	97	302
MG	11	4	281	1	92	99	98	297
UU	70	10	224	0	100	96	97	304

\* Se eliminó 1 muestra de CT discordante del análisis debido a que no quedaba material suficiente para repetirla con un ensayo alternativo.

**Tabla 9. Sensibilidad y especificidad para muestras de orina y frotis femeninos**

Muestras de orina y frotis femeninos (n = 289)

	Verdadero positivo	Falso positivo	Verdadero negativo	Falso negativo	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Concordancia (%)	Muestras totales
CT	13	0	220	0	100	100	100	233
NG	2	1	230	0	100	100	100	233
VHS1	47	7	112	0	100	94	96	166
VHS2	21	14	131	0	100	90	92	166
TP	0	0	123	0	-	100	100	123
TV	5	0	91	0	100	100	100	96
MH	41	12	23	0	100	66	84	76
MG	1	0	57	0	100	100	100	58
UU	40	5	23	0	100	82	93	68

*Claudia Etcheve*  
 BIOARS S.A.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVE  
 DIRECTORA TÉCNICA



## VI. GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

La siguiente guía de resolución de problemas debería asistir en la resolución de cualquier problema que pudiera surgir durante el procedimiento del ensayo.

Mensaje de error/observación	Causas probables	Acción recomendada
<b>Fallo en el biochip:</b> No se detecta señal de ninguna DTR, incluidas las DTR de referencia/corrección (REFB).	No se agregó el conjugado a los biochips en el paso 3. i, o el paso se realizó de manera incorrecta.  No se agregó señal a los biochips en el paso 4 o la señal se preparó de manera incorrecta.  Reactivos fuera de la fecha de vencimiento	Repita el análisis garantizando la adición de conjugado para el tiempo y la temperatura especificados.  Asegúrese de que se prepare la proporción especificada de LUM-EV805 respecto de PX, de que se la proteja de la luz y de que se la agregue al biochip durante 2 minutos antes del análisis.  Use un nuevo kit.
<b>Fallo en el control:</b> Las DTR de referencia/corrección (REFB) producen señales pero el control de extracción (EC) no produce señales.	Mala calidad de la muestra o muestra sin ADN.  Almacenamiento incorrecto de la muestra.  No se siguió el procedimiento de purificación de ADN de manera correcta.  Fallo en PCR por <ul style="list-style-type: none"> <li>• realización incorrecta</li> <li>• Error en la máquina PCR</li> <li>• Inhibidor de PCR</li> </ul> Error del usuario	Se requiere muestra adicional.  La muestra se debe almacenar a entre +2 °C y +8 °C antes de la purificación de ADN (almacene el ADN purificado a ≤-20 °C).  Repita la purificación de ADN siguiendo el manual del fabricante.  Verifique las condiciones y repita la reacción PCR. Verifique el registro de errores de la máquina PCR. La dilución del molde puede mejorar el rendimiento de PCR si la muestra es de mala calidad.  Muestra no agregada al biochip.
<b>Fallo en el control negativo:</b> Señal para el patógeno o las DTR de control de extracción (EC)/ampliación en la reacción de control de PCR negativa	Contaminación arrastrada	Repita el análisis completo. El análisis se debe realizar en un área separada, lejos de moldes de ADN.

*Claudia Etcheve*  
 BIOARS S.A.  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVE  
 DIRECTOR TÉCNICO



## VII. REFERENCIAS

1. Sexually transmitted infections (STIs) Fact sheet N°110 Updated November 2013  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/>
2. World Health Organization (WHO). Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections-2008. WHO: Geneva, 2008.
3. Cunningham K.A. & Beagley K.W. 2008. "Male Genital Tract Chlamydial Infection: Implications for Pathology and Infertility", *Biology of Reproduction*, vol. 79: 180-189
4. Lewis D.A. & Lukehart S.A. 2011. "Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* and *Treponema pallidum*: evolution, therapeutic challenges and the need to strengthen global surveillance", *Sexually Transmitted Infections*, vol. 87(S2): ii39-43
5. Looker KJ, Magaret AS, Turner KM, Vickerman P, Gottlieb SL, Newman LM. Global estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 2 infections in 2012. *PLoS One*. 2015 Jan 21;10(1):e114989
6. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010 (<http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/default.htm>). *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2010. 59(RR-12): 21-22
7. Celum C.L. 2010, "Sexually Transmitted Infections and HIV: Epidemiology and Interventions", *Topics in HIV Medicine* 18(4): 138-142
8. Hawkes S., Matin N., Broutet N. & Low L. 2011, "Effectiveness of interventions to improve screening for syphilis in pregnancy: a systematic review and meta-analysis", *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 11(9): 684-691
9. Larsen B. & Hwang J. 2010. "Mycoplasma, Ureaplasma, and Adverse Pregnancy Outcomes: A Fresh Look", *Infection Diseases in Obstetrics and Gynecology*, vol. 2010, Article ID 521921, 7 pages
10. Waites K.B., Katz B. & Schelonka R.L. 2005, "Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens", *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 18(4): 757-789
11. Ross J.D.C. & Jensen J.S. 2006. "Mycoplasma genitalium as a sexually transmitted infection: implications for screening, testing, and treatment", *Sexually transmitted Infections*, vol. 82: 269-271
12. Haggerty CL, Taylor BD. Mycoplasma genitalium: an emerging cause of pelvic inflammatory disease. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2011; 2011:959816.
13. Steen R. 2001, "Eradicating chancroid", *Bulletin of the World Health Organisation*, vol. 79(9): 818-826
14. Mohammed T.T. & Olumide Y.M. 2008, "Chancroid and human immunodeficiency virus infection-a review", *International Journal of Dermatology*, vol. 47(1): 1-8
15. Patil M.J., Nagamoti J.M. & Metgud S.C. 2012, "Diagnosis of *Trichomonas Vaginalis* from Vaginal Specimens by Wet Mount Microscopy, In Pouch TV Culture System, and PCR", *Journal of Global Infectious Diseases*, vol. 4(1): 22-25
16. McClelland RS, Sangare L, Hassan WM, et al. Infection with *Trichomonas vaginalis* increases the risk of HIV-1 acquisition. *J Infect Dis*. 2007;195:698-702
17. Fichorova RN. Impact of *T. vaginalis* infection on innate immune responses and reproductive outcome. *J Reprod Immunol*. 2009; 83:185-9.

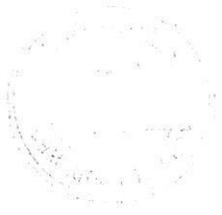
## VIII. APÉNDICE

### A. Abreviaturas

ADN	ácido desoxirribonucleico
dNTP	desoxinucleótido trifosfatos
PCR	reacción en cadena de polimerasa
DTR	región de prueba discreta (región del biochip en la que se observa una sonda específica)

*[Handwritten Signature]*  
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
 DIRECTOR TECNICO

Revisado el 08 de Nov de 2016 bm



## INDICACIÓN AL CONSUMIDOR

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S. A. pone a disposición del Cliente.



Establecimiento Elaborador: Randox Laboratories Ltd, 55 Diamond Road, Crumlin, BT29 4QY, Reino Unido.  
Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.  
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028  
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. PM-1127-307

*Claudia E. Etchevés*  
BIOARS S.A.  
CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TECNICO



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
2020 - Año del General Manuel Belgrano

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:**

**Referencia:** 147-3110-6346-17-9 Bioars s.a

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 32 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE  
Date: 2020.02.14 09:33:03 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL  
ELECTRONICA - GDE  
Date: 2020.02.14 09:33:35 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
Las Malvinas son argentinas

**Certificado - Redacción libre**

**Número:**

**Referencia:** 1-47-3110-6346/17-9

---

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN

PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-3110-6346/17-9

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

Nombre comercial: **STI Multiplex Array II (Sexually Transmitted Infection (STI) Multiplex Array II).**

Indicación de uso: Ensayo cualitativo utilizado para la detección simultanea de 10 infecciones de transmisión sexual frecuente a partir de muestras de orina o de hisopados urogenitales. Esta prueba está prevista para su uso en el entorno clínico como un DIV para asistir en el diagnóstico de infecciones de transmisión sexual de pacientes sintomáticos y asintomáticos. Los patógenos detectados son: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Treponema pallidum*, Virus del herpes simple I, Virus del herpes simple II, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* y *Haemophilus ducreyi*.

Forma de presentación: Envases por 108 determinaciones, conteniendo:

**Parte A:**

MEZCLA DE REACCION STI (STI RM): 2 Viales de 250 $\mu$ L.

MEZCLA CEBADORA DE STI II (STI II PM): 2 Viales de 250  $\mu$

AGUA DE CALIDAD MOLECULAR (WATER): 1.5 ml.

ANTICONTAMINANTE (ANTI-CONTAM): 24  $\mu$

**Parte B:**

BIOCHIP DE STI (BIOCHIP DE STI II): 12 transportadores/18 biochip.

TAMPON DE HIBRIDACION (HYB BUFF): 30 ml.

CONJUGADO STI (STI CONJ): 30 ml.

TAMPON DE LAVADO CONCENTRADO (BUF WASH CONC): 15 ml.

REACTIVO DE SEÑAL DE LUMINOL (LUM-EV805): 2 Viales de 15 ml.

REACTIVO DE SEÑAL DE PEROXIDO (PX): 2 Viales de 15 ml.

PAPEL DE ALUMINIO SELLADOR ADHESIVO (FOIL): Para 12 transportadores.

Período de vida útil y condición de conservación: 12 (DOCE) meses, desde la fecha de elaboración conservado a  $\leq 20^{\circ}\text{C}$  (Parte A) y  $+2\text{-}+8^{\circ}\text{C}$ .

Nombre y dirección del fabricante: Randox Laboratories Ltd, 55 Diamond Road, Crumlin, BT29 4QY, Reino Unido.

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: Venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-1127-307.

Expediente Nº 1-47-3110-6346/17-9

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica

Date: 2022.03.11 15:38:31 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica

Date: 2022.03.11 15:38:32 -03:00