



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004975-23-4

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-004975-23-4 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones BIOARS S.A. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro Nombre descriptivo: Detección de patógenos de enfermedades de transmisión sexual

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

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

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

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

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorias.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro ,Nombre descriptivo: Detección de patógenos de enfermedades de transmisión sexual, de acuerdo con lo solicitado por BIOARS S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento GEDO N° IF-2023-111705783-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 1127-446 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

ARTÍCULO 6º.- 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 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Detección de patógenos de enfermedades de transmisión sexual

Marca comercial: VIRCELL

Modelos:

CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT

Indicación/es de uso:

Kit de RT-PCR en tiempo real para detectar ácidos nucleicos de Chlamydia trachomatis (CT), Neisseria gonorrhoeae (NG), Trichomonas vaginalis (TV) y Mycoplasma genitalium (MG) en orina y exudados endocervical y perianal humanos.

Forma de presentación: A) Viales para alicuotar reacciones.

B) Placa de pocillos divisible.

A); B) 96 pruebas.

Contienen:

A)

- VIRCELL STD RT-PCR MIX: 6 viales que contienen Taq polimerasa, tampón y oligonucleótidos/sondas específicas para la detección de *Chlamydia trachomatis* (CT) (gen *pmpH* y una región específica dentro del plásmido *pCTT1*), *Neisseria gonorrhoeae* (NG) (gen *opaI*), *Trichomonas vaginalis* (TV) (gen *G3hp*) y *Mycoplasma genitalium* (MG) (gen *mgpA*); y oligonucleótidos/sondas para el control interno. 16 reacciones por vial. Liofilizado.
- VIRCELL STD POSITIVE CONTROL: 1 vial con mezcla de ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados para usar como control positivo.
- VIRCELL NEGATIVE CONTROL: 200 μ L de agua desionizada, para usar como control negativo.
- VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION: 2 x 1 mL de solución acuosa para reconstituir el PCR mix.
- VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μ L de solución acuosa para reconstituir el control positivo.

B)

VIRCELL STD RT-PCR MIX LPD: 1 placa de 96 pocillos divisible en 12 tiras de 8 que contienen Taq polimerasa, tampón y oligonucleótidos/sondas específicas para la detección *Chlamydia trachomatis* (CT) (gen *pmpH* y una región específica dentro del plásmido *pCTT1*), *Neisseria gonorrhoeae* (NG) (gen *opaI*), *Trichomonas vaginalis* (TV) (gen *G3hp*) y *Mycoplasma genitalium* (MG) (gen *mgpA*); y oligonucleótidos/sondas para el control interno. 1 reacción por tubo. Liofilizado.

- VIRCELL STD POSITIVE CONTROL: 1 vial con mezcla de ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados para usar como control positivo.
- VIRCELL NEGATIVE CONTROL: 200 μ L de agua desionizada, para usar como control negativo.
- VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION: 2 x 1 mL de solución acuosa para reconstituir el PCR mix.
- VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μ L de solución acuosa para reconstituir el control positivo.
- VIRCELL RT-PCR MIX CAPS: 12 tiras de 8 tapones RT-PCR compatibles.

Período de vida útil y condición de conservación: A); B): 18 meses, conservado a 2-8 °C

Nombre del fabricante:

Vircell,s.l.

Lugar de elaboración:

Parque Tecnológico de la Salud. Avicena 8, 18016. Granada, España.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-004975-23-4

N° Identificadorio Trámite: 51853

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2023.10.02 19:18:04 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.10.02 19:18:07 -03:00

PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT

A) Presentación en viales

CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT vircell 

REF RTPCR006 LOT YYRTPCR006000  YYYY/MM  IVD  0318


1	6 VIRCELL STD RT-PCR MIX	RCNS 160 µl	LOT	YYRTPCR006100
3	1 VIRCELL STD POSITIVE CONTROL	RCNS 100 µl	LOT	YYRTPCR006300
4	200 µl VIRCELL NEGATIVE CONTROL		LOT	YYSPNC000
5	2 x 1 ml VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION		LOT	YYSPRMX000
6	500 µl VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION		LOT	YYSPRPC000


(01)08436040328439(10)YYRTPCR006000(17)YYMMDD

 96  80°C
20°C


 Vircell, S.L. Parque Tecnológico de la Salud, Avicena 8, 18016 Granada, Spain.

Sobrerótulo:

 **Importador: BIOARS S.A. Estomba 961 - C.A.B.A.**
C.P.: C1427COU Tel.: (011) 4555 4601
www.bioars.com.ar

RTPCR006 CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT

Venta exclusiva a laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
Autorizado por la A.N.M.A.T. - Certificado N° PM-1127-446
Directora Técnica: Dra. Claudia E. Etchevés (m.n. 7028)


RTPCR006 LOTE MM.DD.AAAA


BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

B) Presentación en placa de pocillos divisible

CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT vircell 

REF RTPCR006-LPD LOT YYRTPCR006000LPD  YYYY/MM  IVD  0318


1	1 VIRCELL STD RT-PCR MIX LPD	LOT	YYRTPCR006100LPD
3	1 VIRCELL STD POSITIVE CONTROL	RCNS 100 µl	LOT YYRTPCR006300
4	200 µl VIRCELL NEGATIVE CONTROL	LOT	YYSPNC000
5	2 x 1 ml VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION	LOT	YYSPRMX000
6	500 µl VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION	LOT	YYSPRC000
7	1 VIRCELL RT-PCR MIX CAPS	LOT	YYPCR004000


(01)08436040328859(10)YYRTPCR006000LPD(17)YYMMDD

 96  80°C / 20°C


 Vircell, S.L. Parque Tecnológico de la Salud, Avicena 8, 18016 Granada, Spain.

Sobrerótulo:

 **Importador: BIOARS S.A. Estomba 961 - C.A.B.A.**
C.P.: C1427COU Tel.: (011) 4555 4601
www.bioars.com.ar

RTPCR006-LPD CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT

Venta exclusiva a laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
Autorizado por la A.N.M.A.T. - Certificado N° PM-1127-446
Directora Técnica: Dra. Claudia E. Etchevés (m.n. 7028)


RTPCR006.LPD LOTE MM.DD.AAAA


BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT

A) Presentación en viales

Mix de PCR

1 VIRCELL STD RT-PCR MIX

LOT YYRTPCR006100 YYY/YY

RCNS 160 µl IVD CE 0318 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

Control positivo

3 VIRCELL STD POSITIVE CONTROL

LOT YYRTPCR006300 YYY/YY

RCNS 100 µl CE 0318 IVD 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

Control negativo

4 VIRCELL NEGATIVE CONTROL

LOT YYSNPC000 YYY/YY

200 µl CE IVD 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

Solución de reconstitución de mix

5 VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION

LOT YYSPRMX000 YYY/YY

1 ml CE IVD 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

Solución de reconstitución de control positivo

6 VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION

LOT YYSRPC000 YYY/YY

500 µl CE IVD 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

B) Presentación en placa de pocillos divisible

Placa de pocillos

1 VIRCELL STD RT-PCR MIX LPD

LOT YYRTPCR006100LPD YYY/YY

Vircell, S.L. Parque Tecnológico de la Salud, Avicena 8, 18016 Granada, Spain.

Control positivo

3 VIRCELL STD POSITIVE CONTROL

LOT YYRTPCR006300 YYY/YY

RCNS 100 µl CE 0318 IVD 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

Control negativo

4 VIRCELL NEGATIVE CONTROL

LOT YYSNPC000 YYY/YY

200 µl CE IVD 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

Tiras de tapones RT-PCR compatibles

7 VIRCELL RT-PCR MIX CAPS

LOT YYPCR004000 YYY/YY

Vircell, S.L. Parque Tecnológico de la Salud, Avicena 8, 18016 Granada, Spain.

Solución de reconstitución de mix

5 VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION

LOT YYSPRMX000 YYY/YY

1 ml CE IVD 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

Solución de reconstitución de control positivo

6 VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION

LOT YYSRPC000 YYY/YY

500 µl CE IVD 8°C 2°C

Vircell, S.L. Granada, Spain.

Handwritten signature

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT

REF

RTPCR006



96

CE 0318

Producto para diagnóstico *in vitro*

FINALIDAD PREVISTA

Kit de RT-PCR en tiempo real para detectar ácidos nucleicos de *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Trichomonas vaginalis* (TV) y *Mycoplasma genitalium* (MG) en orina y exudados endocervical y perianal humanos.

El Organismo Notificado 0318 evaluó exclusivamente la conformidad de *Chlamydia trachomatis*.

Este producto es un análisis cualitativo y automatizado, destinado para ser usado como ayuda al diagnóstico.

INTRODUCCIÓN

Las clamidias son bacterias intracelulares obligadas e inmóviles, con un ciclo de vida peculiar que incluye dos fases: cuerpos reticulares y elementales. *Chlamydia trachomatis* (CT) incluye dos biovars humanos: el linfogranuloma venéreo, característico por su tropismo hacia células linfoides y su capacidad de causar enfermedades sistémicas, y el biovar tracoma, limitado fundamentalmente a células epiteliales de las membranas mucosas, y capaz de causar tracoma, enfermedades de transmisión sexual y conjuntivitis y neumonía neonatales.

La *Neisseria gonorrhoeae* (NG) o gonococo es una bacteria Gramnegativa, oxidasa positiva, aeróbica, nutricionalmente fastidiosa, que microscópicamente aparece como diplococos. Los humanos son los únicos hospedadores naturales del gonococo, el cual se transmite por vía sexual. Las infecciones se limitan generalmente a las superficies mucosas tapizadas por células epiteliales columnares y afectan a la uretra, cérvix, recto, faringe y conjuntiva.

Trichomonas vaginalis (TV) es un protozoo flagelado que aparentemente no forma quistes, y no sobrevive bien fuera de su hospedador. Reside en el tracto genital inferior de las mujeres y en la uretra y próstata de los hombres, y se transmite por vía sexual. Causa vaginitis, cervicitis y uretritis.

Mycoplasma genitalium (MG) pertenece a la clase Mollicutes, que comprende pequeñas bacterias fastidiosas (en dimensiones y tamaño de genoma) careciendo de pared celular que crecen en colonias de pequeño tamaño. Está unido a células epiteliales ciliadas. El primer tejido infectado por MG es el tracto urogenital.

Este kit se basa en la amplificación en el mismo pocillo de reacción de fragmentos específicos de CT, NG, TV y MG mediante PCR en tiempo real. El hecho de que las infecciones por estos microorganismos comparten algunos signos clínicos pone de manifiesto la importancia de un diagnóstico clínico rápido y preciso.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Se basa en la amplificación en el mismo pocillo de reacción de fragmentos específicos de *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Trichomonas vaginalis* (TV) y *Mycoplasma genitalium* (MG) mediante PCR en tiempo real.

Se suministra un único mix (RT-PCR MIX) liofilizado para screening e identificación de estos cuatro microorganismos.

El Mix de PCR tiene como dianas dos fragmentos específicos del genoma de CT, un fragmento específico de un gen de NG, un fragmento específico del genoma de TV y un fragmento específico del genoma de MG.

Se incluye un control de amplificación asociado a la extracción de la muestra para comprobar la ausencia de inhibidores de amplificación, y la correcta configuración de la amplificación. Este control consiste en un vector artificial con parejas de oligonucleótidos y sondas específicas para su amplificación.

La técnica se divide en 2 pasos principales: extracción de ADN y amplificación/detección con parejas de oligonucleótidos y sondas específicas. El ADN de CT se detecta en el canal FAM, el ADN de NG se detecta en el canal HEX/VIC, el ADN de TV se detecta en el canal Cy5 y el ADN de MG se detecta en el canal Texas Red/ROX. El control interno (IC) es detectado en el canal Quasar 705.

CARACTERÍSTICAS

VIRCELL RT-PCR MIX y VIRCELL POSITIVE CONTROL están liofilizados. Es necesario reconstituirlos antes de usarlos (Ver «Preparación del producto»). El resto de los reactivos están listos para su uso.

El kit está basado en la amplificación y detección mediante PCR a tiempo real.

MATERIALES SUMINISTRADOS

[1] VIRCELL STD RT-PCR MIX: 6 viales que contienen Taq polimerasa, tampón y oligonucleótidos/sondas específicas para la detección de CT (gen *pmpH* y una región específica dentro del plásmido *pCTT1*), NG (gen *opaI*), TV (gen *G3hp*) y MG (gen *mgaA*). Además, oligonucleótidos/sondas para el control interno. 16 reacciones por vial. Liofilizado.

[3] VIRCELL STD POSITIVE CONTROL: 1 vial con mezcla de ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados para usar como control positivo. Tapón rojo.

[4] VIRCELL NEGATIVE CONTROL: 200 µl de agua desionizada, para usar como control negativo. Tapón verde.

[5] VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION: 2 x 1 ml de solución acuosa para reconstituir el PCR mix. Tapón amarillo.

[6] VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 µl de solución acuosa para reconstituir el control positivo. Tapón marrón.

Materiales específicos necesarios no suministrados:

-Cabinas de flujo laminar.

-Kits de extracción de ácidos nucleicos (ver recomendaciones en «Procedimiento del ensayo»).

-Termociclador qRT-PCR.

-Micropipetas de precisión.

-Puntas estériles con filtro.

-Microcentrífuga.

-Cabinas de PCR (recomendable).

-Vortex.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Conservar entre 2 y 8°C. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La caducidad indicada será válida siempre que los componentes se mantengan cerrados y conservados entre 2 y 8°C.

ESTABILIDAD DURANTE EL USO

VIRCELL POSITIVE CONTROL reconstituido: a temperatura entre -25°C y -15°C y usar hasta su fecha de caducidad. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.

VIRCELL RT-PCR MIX reconstituido: a temperatura entre -25°C y -15°C y usar hasta su fecha de caducidad. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.

Resto de componentes: Fecha indicada en envase a 2-8°C.

VIRCELL RT-PCR MIX una vez reconstituidos deben ser utilizados en el mismo momento, manteniéndolos hasta su uso en una gradilla fría protegidos de la luz.

VIRCELL, S.L. no se responsabiliza de la inadecuada utilización de los reactivos contenidos en el kit.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.

2. El producto está indicado únicamente para personal con formación para la técnica.

3. El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables.

4. Use únicamente los protocolos descritos en este prospecto. Si las condiciones no son las especificadas, los resultados pueden ser erróneos.

5. Use equipamiento de protección individual cuando se manipulen las muestras y los reactivos. Lávese las manos adecuadamente tras la manipulación de las muestras y los reactivos. Todos los procedimientos deben llevarse a cabo de acuerdo con las normas de seguridad aprobadas.

6. Utilizar puntas de pipeta diferentes y limpias para cada fase del ensayo. Utilizar solo material limpio y preferentemente desechable.

7. No pipetear con la boca.

8. No utilizar en caso de deterioro del envase.

9. No use el kit tras su fecha de caducidad.

10. No dejar los reactivos a temperatura diferente a la recomendada más tiempo del absolutamente necesario.

11. Mantenga los recipientes para muestras y reactivos cerrados mientras no se estén utilizando.

12. Evite el uso de muestras sometidas a ciclos repetidos de congelación-descongelación.

13. Usar en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas.

14. Los componentes de este equipo podrán contener material genético o sustancias de origen animal y/o humano. A pesar de no ser infeccioso, este material debería ser manipulado como potencialmente infeccioso. Todos los

materiales deberían manipularse y eliminarse como potencialmente infecciosos. Observe la regulación local en materia de residuos.

15. Todo el material no usado debe ser desechado de acuerdo a la regulación aplicable.

16. Usar solo componentes del kit. No mezclar los componentes de diferentes kits o fabricantes. Solo VIRCELL NEGATIVE CONTROL, VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION y VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION son compatibles con los equivalentes en otras referencias y lotes de RTPCR VIRCELL.

17. El kit contiene elementos de vidrio que en caso de rotura podrían provocar lesiones físicas. Manipular con precaución.

18. Las muestras deben ser tratadas como si fuesen infecciosas utilizando procedimientos de seguridad del laboratorio. Mantener limpias y desinfectadas todas las superficies de trabajo con una solución recién preparada de hipoclorito sódico 0,5% en agua desionizada o destilada.

19. Para obtener resultados más fiables es aconsejable ensayar las muestras lo antes posible después de la recogida de las mismas. No se han probado diferentes tiempos de almacenamiento durante el envío de las muestras.

20. Se recomienda tener dos áreas de trabajo independientes para la realización del test: área de Pre-Amplificación y área de Amplificación.

21. Debido a la alta sensibilidad analítica del test, hay que extremar las precauciones para preservar la pureza de los reactivos del kit y las mezclas de amplificación. Todos los reactivos usados deben tener el máximo nivel de pureza.

22. Se recomienda el uso de kits de purificación de ADN convencionales.

23. Cualquier incidente grave relacionado con el producto deberá comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que estén establecidos el usuario y/o el paciente.

CONDICIONES DE RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El kit puede utilizarse con muestras clínicas como la orina y los exudados endocervicales y perianales.

Evite retrasos en el transporte y las investigaciones de laboratorio. Las muestras pueden ser almacenadas a 2-8°C hasta 72 horas después de su recogida, o a una temperatura entre -25°C y -15°C durante periodos más largos de tiempo.

PREPARACIÓN DEL PRODUCTO

Todos los reactivos suministrados están listos para su uso, excepto VIRCELL RT-PCR MIX [1] y VIRCELL POSITIVE CONTROL [3].

[1] VIRCELL RT-PCR MIX. Para su reconstitución añadir 160 µl de VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION [5] por vial. Mezclar bien usando el vórtex durante 2-3 segundos.

⚠ VIRCELL RT-PCR MIX reconstituido debe usarse justo después de añadir la solución de reconstitución y debe mantenerse protegido de la luz en una gradilla fría hasta su uso.

El exceso de PCR mix reconstituido puede congelarse a una temperatura entre -25°C y -15°C protegida de la luz para ser utilizado en reacciones posteriores.

A fin de evitar procesos de congelación y descongelación repetidos, se recomienda transferir el remanente de master mix no utilizada del vial, a razón de 10 µl por tubo de PCR.

[3] VIRCELL POSITIVE CONTROL. Para su reconstitución, seguir los siguientes pasos:

- Centrifugar el tubo correspondiente durante 5 segundos a 5000 g.
- Añadir 100 µl de VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION [6].
- Mezclar usando el vórtex durante 1-2 segundos.

CONTROL	CT (FAM)	NG (HEX/VIC)	TV (Cy5)	MG (Texas/ROX)	IC (Q705)	Interpretación
VIRCELL STD POSITIVE CONTROL	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Correcto
	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Inválido
VIRCELL NEGATIVE CONTROL	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Correcto
	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Inválido

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La interpretación de los resultados se describe en las tablas que figuran a continuación:

RESULTADO	CT (FAM)	NG (HEX/VIC)	TV (Cy5)	MG (Texas/ROX)	IC (Q705) ¹	Interpretación
1	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Inválido (relacionado con la muestra/kit/configuración)
2	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Negativa

- Centrifugar el tubo durante 5 segundos a 5000 g.

Una vez reconstituido, VIRCELL POSITIVE CONTROL [3] puede ser congelado a una temperatura entre -25°C y -15°C para ser usado en reacciones posteriores.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Extracción de ADN (realizado en la zona de Pre-Amplificación):
 - Se recomienda utilizar un kit de extracción comercial para la extracción de ADN. Para el uso de kits de extracción comerciales, seguir las instrucciones del fabricante. Consultar con el servicio de atención al cliente.
- Amplificación por RT-PCR (realizado en la zona de Amplificación):
 - Preparación de tubos de RT-PCR: Etiquetar y colocar en una gradilla el número de tubos/tiras de tubos necesarios. Serán necesarios un tubo por cada muestra, más un tubo para el control negativo y otro para el control positivo.
 - Reconstitución del VIRCELL RT-PCR MIX: Añadir 160 µl de VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION [5] por vial. Mezclar bien usando el vórtex durante 2-3 segundos. Mantener frío tras reconstitución/descongelación.
 - Pipetear 10 µl de Mix a cada tubo de PCR.
 - Adición de la muestra: Añadir 10 µl de cada muestra de ADN extraído a cada tubo. Añadir 10 µl de VIRCELL POSITIVE CONTROL [3] y VIRCELL NEGATIVE CONTROL [4] a los tubos correspondientes. El control negativo es agua. Asegure los tapones en los tubos.
 - Programa RT-PCR: Introducir los tubos de PCR en el termociclador a tiempo real y ejecute el siguiente programa *:

1 ciclo	95 °C	3 minutos
45 ciclos	95 °C	15 segundos
	58 °C	45 segundos*

*Lectura de datos de fluorescencia (FAM, HEX, Texas Red, Cy5 y Q705).

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Cada lote se somete a control de calidad interno antes de su liberación asegurando el cumplimiento de especificaciones estrictas.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN POR EL USUARIO

Es recomendable incluir un control negativo en cada ensayo. El control negativo monitorizará la contaminación del reactivo o ambiental.

Se recomienda incluir un control positivo en cada ensayo. El control positivo monitoriza los fallos de los reactivos y el correcto funcionamiento del procedimiento esencial.

El programa de análisis del termociclador posiblemente calcule automáticamente los valores de fluorescencia basal (umbral o threshold) basado en la curva de amplificación para cada una de las dianas (canales de fluorescencia). En cualquier caso, se recomienda analizar individualmente y establecer un umbral para cada diana. Para establecer el umbral de cada canal se recomienda utilizar como referencia las curvas de amplificación del control positivo y negativo. El valor umbral se debería fijar al inicio del aumento exponencial de fluorescencia, y por encima de la fluorescencia basal de la reacción.

La interpretación del resultado de los controles es el siguiente:

RESULTADO	CT (FAM)	NG (HEX/VIC)	TV (Cy5)	MG (Texas/ROX)	IC (Q705) ¹	Interpretación
3	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT
4	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	NG
5	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	TV
6	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	MG
7	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + NG
8	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + TV
9	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + MG
10	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	NG + MG
11	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	NG + TV
12	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	TV + MG
13	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + NG + TV
14	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + TV + MG
15	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + NG + MG
16	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	NG + TV + MG
17	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + NG + TV + MG

¹ En caso de un alto número copias del ácido nucleico diana, la amplificación del control interno (CI) en los resultados 3 al 17 de la tabla anterior puede verse afectada. La amplificación tardía o ausencia de amplificación del CI no varía la interpretación del resultado.

En caso de que el resultado sea inválido o no concluyente, se recomienda volver a extraer el ADN de la muestra original y volver a analizar. En caso de que no amplifique el control interno, se podría suponer una extracción inadecuada de los ácidos nucleicos o inhibición de la amplificación. Se recomienda analizar una nueva muestra.

LIMITACIONES DE USO

- Este kit está diseñado para ser utilizado con orina y exudados endocervical y perianal humanos. La funcionalidad con otros tipos de muestras no ha sido evaluada.
- Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos.
- La detección de los ácidos nucleicos de los patógenos depende del número de organismos presentes en la muestra y podría verse afectado por los métodos de recogida de muestras, factores del paciente, estadio de la infección y/o cepa. También pueden producirse resultados falsos negativos si hay inhibidores de la amplificación presentes en la muestra. Deben utilizarse métodos validados de extracción de ácidos nucleicos para ADN bacteriano y protozoario.
- Los resultados del test son cualitativos. No existe correlación entre la magnitud del resultado positivo y el número de microorganismos en la muestra.
- El test solo funciona dentro de los límites de las regiones genómicas en las que las sondas han sido diseñadas. Debido a la alta variabilidad de los genomas ADN es posible que ciertos subtipos no sean detectados. En el momento del diseño, no se detectaron mutaciones de las regiones diana.
- Un resultado negativo no excluye la presencia del microorganismo en niveles por debajo del límite de detección del ensayo.
- Un test positivo no excluye la posibilidad de que otros patógenos estén presentes.
- Los valores obtenidos en el estudio de prestaciones de sensibilidad y especificidad para *Chlamydia trachomatis* corresponden al total de muestras ensayadas y pueden variar en función del tipo de muestra.
- Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos.

CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Chlamydia trachomatis

Se ensayaron muestras de orina y exudados endocervical y perianal humanos frente a un kit comercial de PCR en tiempo real o se caracterizaron externamente. Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº muestras	224	
Sensibilidad (%)	99	
	95% CI	97-100
Especificidad (%)	100	
	95% CI	90-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	97	
LR+/LR-	-1,00 / -0,98	
Verdaderos positivos	187	
Verdaderos negativos	36	
Falsos positivos	0	
Falsos negativos	1	
Dudosos	0	

CI: Intervalo de confianza
PPV: Valor predictivo positivo
NPV: Valor predictivo negativo
LR+: Coeficiente de verosimilitud positivo
LR-: Coeficiente de verosimilitud negativo

Mycoplasma genitalium

Se ensayaron muestras de orina y exudados endocervical y perianal humanos frente a un kit comercial de PCR en tiempo real o se caracterizaron externamente.

Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº muestras	103	
Sensibilidad (%)	99	
	95% CI	92-100
Especificidad (%)	100	
	95% CI	90-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	97	
LR+/LR-	-1,00 / -0,98	
Verdaderos positivos	66	
Verdaderos negativos	36	
Falsos positivos	0	
Falsos negativos	1	
Dudosos	0	

CI: Intervalo de confianza
 PPV: Valor predictivo positivo
 NPV: Valor predictivo negativo
 LR+: Coeficiente de verosimilitud positivo
 LR-: Coeficiente de verosimilitud negativo

Neisseria gonorrhoeae

Se ensayaron muestras de orina y exudados endocervical y perianal humanos frente a un kit comercial de PCR en tiempo real o se caracterizaron externamente. Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº muestras	180	
Sensibilidad (%)	99	
	95% CI	95-100
Especificidad (%)	100	
	95% CI	90-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	95	
LR+/LR-	-1,00 / -0,98	
Verdaderos positivos	142	
Verdaderos negativos	36	
Falsos positivos	0	
Falsos negativos	2	
Dudosos	0	

CI: Intervalo de confianza
 PPV: Valor predictivo positivo
 NPV: Valor predictivo negativo
 LR+: Coeficiente de verosimilitud positivo
 LR-: Coeficiente de verosimilitud negativo

Trichomonas vaginalis

Se ensayaron muestras de orina y exudados endocervical y perianal humanos frente a un kit comercial de PCR en tiempo real o se caracterizaron externamente. Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº muestras	79	
Sensibilidad (%)	98	
	95% CI	88-100
Especificidad (%)	100	
	95% CI	90-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	97	
LR+/LR-	-0,99 / -0,97	
Verdaderos positivos	42	
Verdaderos negativos	36	
Falsos positivos	0	
Falsos negativos	1	
Dudosos	0	

CI: Intervalo de confianza
 PPV: Valor predictivo positivo
 NPV: Valor predictivo negativo
 LR+: Coeficiente de verosimilitud positivo
 LR-: Coeficiente de verosimilitud negativo

PRECISIÓN

4 muestras (2 positivas y los controles positivo y negativo) se amplificaron 2 veces en 2 ensayos realizados por día en 2 termocicladores qRT-PCR diferentes durante 20 días consecutivos. Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-

Rad). Se ha determinado precisión intraensayo, precisión interensayo, precisión entre días y precisión entre laboratorios.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Chlamydia trachomatis

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Control positivo	0,4	0,4	0,7	0,9
Muestra positiva 1	0,9	0,4	0,7	1,2
Muestra positiva 2	0,8	0,9	0,7	1,4
Control negativo	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación

CV: Coeficiente de variación

Mycoplasma genitalium

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Control positivo	0,6	0,9	0,6	1,2
Muestra positiva 1	0,8	1,3	0,4	1,5
Muestra positiva 2	0,8	1,0	0,5	1,4
Control negativo	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación

CV: Coeficiente de variación

Neisseria gonorrhoeae

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Control positivo	1,5	0,5	0,6	1,6
Muestra positiva 1	0,5	0,8	0,4	1,0
Muestra positiva 2	0,8	0,9	0,5	1,3
Control negativo	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación

CV: Coeficiente de variación

Trichomonas vaginalis

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Control positivo	2,8	0,7	2,4	3,6
Muestra positiva 1	2,2	2,2	2,4	4,0
Muestra positiva 2	1,8	1,4	2,5	3,4
Control negativo	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación

CV: Coeficiente de variación

REACCIONES CRUZADAS

La especificidad se confirmó ensayando un panel de distintos microorganismos causantes de enfermedades de transmisión sexual o presentes en muestras humanas: *Candida auris*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, coronavirus, citomegalovirus, enterovirus 68, virus de Epstein-Barr, *Escherichia coli* (EPEC), *Gardnerella vaginalis*, *Helicobacter pylori*, herpes simplex tipo 1, herpes simplex tipo 2, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis* serogrupo A, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysacchara*, *Neisseria sicca*, papilomavirus tipo 16 (células Ca Ski), papilomavirus tipo 18 (células HeLa), *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* (mecA-), *Treponema pallidum*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, *Staphylococcus epidermidis*,

Atopobium vaginae, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Lactobacillus jensenii*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* y *Pseudomonas aeruginosa*.

No se hallaron reacciones cruzadas frente a estos organismos.

Además, se realizó un análisis in-silico de las secuencias de oligonucleótidos/sondas comparándolas con otros microorganismos que podrían encontrarse en muestras clínicas. Se analizó la secuencia de 14 microorganismos que podían encontrarse en una muestra clínica: *Mobiluncus mulieris*, *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Atopobium parvulum*, *Bacteroides caccae*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Candida metapsilosis*, *Haemophilus ducreyi*, virus de la hepatitis A, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, *Lactobacillus crispatus* y *Prevotella bivia*.

No se halló una homología superior al 80% en ninguno de los microorganismos analizados.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El LoD (límite de detección) para CT, NG, TV y MG fue determinada utilizando controles ADN (AMPLIRUN® CHLAMYDIA TRACHOMATIS DNA CONTROL; AMPLIRUN® NEISSERIA GONORRHOEAE DNA CONTROL; AMPLIRUN® TRICHOMONAS VAGINALIS DNA CONTROL; AMPLIRUN® MYCOPLASMA GENITALIUM DNA CONTROL).

Se determinó un LoD (límite de detección) preliminar mediante el ensayo de diluciones seriadas de muestras cuantificadas de CT, NG, TV y MG. El ensayo fue realizado utilizando el termociclador CFX96 (Bio-Rad).

Una vez que se estableció un LoD aproximado, la concentración final se confirmó analizando 3 diluciones seriadas. Un mínimo de 20 réplicas fueron testadas para cada dilución.

El LoD se determinó como la concentración más baja en la que $\geq 95\%$ de las réplicas son positivas.

	CT	MG	NG	TV
LoD (copias/ μ L)	1,3	1,4	0,18	0,01
LoD (copias/mL)	1300	1400	180	10
LoD (copias/reacción)	13	14	1,8	0,1

INCLUSIVIDAD

Se realizó un análisis in-silico de los fragmentos diana del ensayo para determinar la inclusividad de las diferentes secuencias de CT, NG, TV y MG disponibles.

El criterio seleccionado para incluir las diferentes secuencias en el análisis fue geográfico y el momento en que se depositó la secuencia. En el análisis de cada microorganismo se incluyeron diferentes linajes, tipos o subtipos.

Se utilizó la base de datos de GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) para acceder a las secuencias.

Los resultados del análisis muestran que no se espera que tenga un impacto significativo en el procedimiento de amplificación / detección. Por lo tanto, no se espera que se vea afectada la reactividad de los oligonucleótidos específicos incluidos en la mezcla de PCR.

CONTROL EXTERNO

Los controles necesarios pero que no están contenidos en el kit incluyen los siguientes:

- como control positivo de extracción, AMPLIRUN® TOTAL CT/NG/TV/MGE CONTROL (SWAB) Cat. MBTC024-R (Vircell)

Los controles externos sirven para monitorizar cualquier contaminación cruzada que ocurra durante el proceso de extracción, así como para validar los reactivos de extracción utilizados.

SÍMBOLOS UTILIZADOS EN LA ETIQUETA



Producto para el diagnóstico *in vitro*



Usar antes de (fecha de caducidad)



Conservar entre x-y°C



Contiene suficiente para <n> pruebas



Lote



Referencia (catálogo)



Consultar instrucciones de uso



Reconstituir en <X> μ l



Fabricante

BIBLIOGRAFÍA

1. Ceovic, R. and Gulin, S.J. 2015. Lymphogranuloma venereum: diagnostic and treatment challenges. *Infection and Drug Resistance*, Mar, 8:39-47. doi: 10.2147/IDR.S57540.
2. Golparian, D. et al. 2013. Analytical Specificity and Sensitivity of the APTIMA Combo 2 and APTIMA GC Assays for Detection of Commensal Neisseria Species and Neisseria gonorrhoeae on the Gen-Probe Panther Instrument. *Sex Transm Dis*, Feb, 40(2):175-178. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3182787e45.
3. Ison, C.A. et al. 2013. Evolution of Neisseria gonorrhoeae is a continuing challenge for molecular detection of gonorrhoea: false negative gonococcal porA mutants are spreading internationally. *Sex Transm Infect*, May, 89(3):197-201. doi:10.1136/sextrans-2012-050829.
4. Papp, J.R. et al. 2014. Recommendations for the Laboratory-Based Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports*, March, 63(2).
5. Pillay, A. et al. 2007. Comparison of a TaqMan-based real-time polymerase chain reaction with conventional tests for the detection of Trichomonas vaginalis. *Sex Transm Infect*, Apr, 83(2):126-129. doi: 10.1136/STD.2006.022376.
6. Shipitsyna, E. et al. 2010. Guidelines for the Laboratory Diagnosis of Mycoplasma genitalium Infections in East European Countries. *Acta Derm Venereol*, Sep, 90(5):461-467. doi: 10.2340/00015555-0929.
7. Unemo, M. et al. 2010. The Swedish new variant of Chlamydia trachomatis: genome sequence, morphology, cell tropism and phenotypic characterization. *Microbiology*, May, 156(Pt 5):1394-1404. doi: 10.1099/mic.0.036830-0.
8. World Health Organization. 2013. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. ISBN 978 92 4 150584 0.

Nº de la versión actual: L-RTPCR006-ES-01

Fecha: 2022/04/19

Actualizaciones: Nueva referencia

CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT

REF

RTPCR006-LPD



96

CE 0318

Producto para diagnóstico *in vitro*

FINALIDAD PREVISTA

Kit de RT-PCR en tiempo real para detectar ácidos nucleicos de *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Trichomonas vaginalis* (TV) y *Mycoplasma genitalium* (MG) en orina y exudados endocervical y perianal humanos.

El Organismo Notificado 0318 evaluó exclusivamente la conformidad de *Chlamydia trachomatis*.

Este producto es un análisis cualitativo y automatizado, destinado para ser usado como ayuda al diagnóstico.

INTRODUCCIÓN

Las clamidias son bacterias intracelulares obligadas e inmóviles, con un ciclo de vida peculiar que incluye dos fases: cuerpos reticulares y elementales. *Chlamydia trachomatis* (CT) incluye dos biovars humanos: el linfogranuloma venéreo, característico por su tropismo hacia células linfoides y su capacidad de causar enfermedades sistémicas, y el biovar tracoma, limitado fundamentalmente a células epiteliales de las membranas mucosas, y capaz de causar tracoma, enfermedades de transmisión sexual y conjuntivitis y neumonía neonatales.

La *Neisseria gonorrhoeae* (NG) o gonococo es una bacteria Gramnegativa, oxidasa positiva, aeróbica, nutricionalmente fastidiosa, que microscópicamente aparece como diplococos. Los humanos son los únicos hospedadores naturales del gonococo, el cual se transmite por vía sexual. Las infecciones se limitan generalmente a las superficies mucosas tapizadas por células epiteliales columnares y afectan a la uretra, cérvix, recto, faringe y conjuntiva.

Trichomonas vaginalis (TV) es un protozoo flagelado que aparentemente no forma quistes, y no sobrevive bien fuera de su hospedador. Reside en el tracto genital inferior de las mujeres y en la uretra y próstata de los hombres, y se transmite por vía sexual. Causa vaginitis, cervicitis y uretritis.

Mycoplasma genitalium (MG) pertenece a la clase Mollicutes, que comprende pequeñas bacterias fastidiosas (en dimensiones y tamaño de genoma) careciendo de pared celular que crecen en colonias de pequeño tamaño. Está unido a células epiteliales ciliadas. El primer tejido infectado por MG es el tracto urogenital.

Este kit se basa en la amplificación en el mismo pocillo de reacción de fragmentos específicos de CT, NG, TV y MG mediante PCR en tiempo real. El hecho de que las infecciones por estos microorganismos comparten algunos signos clínicos pone de manifiesto la importancia de un diagnóstico clínico rápido y preciso.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Se basa en la amplificación en el mismo pocillo de reacción de fragmentos específicos de *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Trichomonas vaginalis* (TV) y *Mycoplasma genitalium* (MG) mediante PCR en tiempo real.

Se suministra un único mix (RT-PCR MIX) liofilizado para screening e identificación de estos cuatro microorganismos.

El Mix de PCR tiene como dianas dos fragmentos específicos del genoma de CT, un fragmento específico de un gen de NG, un fragmento específico del genoma de TV y un fragmento específico del genoma de MG.

Se incluye un control de amplificación asociado a la extracción de la muestra para comprobar la ausencia de inhibidores de amplificación, y la correcta configuración de la amplificación. Este control consiste en un vector artificial con parejas de oligonucleótidos y sondas específicas para su amplificación.

La técnica se divide en 2 pasos principales: extracción de ADN y amplificación/detección con parejas de oligonucleótidos y sondas específicas. El ADN de CT se detecta en el canal FAM, el ADN de NG se detecta en el canal HEX/VIC, el ADN de TV se detecta en el canal Cy5 y el ADN de MG se detecta en el canal Texas Red/ROX. El control interno (IC) es detectado en el canal Quasar 705.

CARACTERÍSTICAS

VIRCELL RT-PCR MIX y VIRCELL POSITIVE CONTROL están liofilizados. Es necesario reconstituirlos antes de usarlos (Ver «Preparación del producto»). El resto de los reactivos están listos para su uso.

El kit está basado en la amplificación y detección mediante PCR a tiempo real.

MATERIALES SUMINISTRADOS

[1] VIRCELL STD RT-PCR MIX LPD: 1 placa de 96 tubos divisible en 12 tiras de 8 tubos que contienen Taq polimerasa, tampón y oligonucleótidos/sondas específicas para la detección de CT (gen *pmpH* y una región específica dentro del plásmido pCTT1), NG (gen *opal*), TV (gen *G3hp*) y MG (gen *mgaA*). Además, oligonucleótidos/sondas para el control interno. 1 reacción por tubo. Liofilizado.

[3] VIRCELL STD POSITIVE CONTROL: 1 vial con mezcla de ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados para usar como control positivo. Tapón rojo.

[4] VIRCELL NEGATIVE CONTROL: 200 µl de agua desionizada, para usar como control negativo. Tapón verde.

[5] VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION: 2 x 1 ml de solución acuosa para reconstituir el PCR mix. Tapón amarillo.

[6] VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 µl de solución acuosa para reconstituir el control positivo. Tapón marrón.

[7] VIRCELL RT-PCR MIX CAPS: 12 tiras de 8 tapones RT-PCR compatibles.

Materiales específicos necesarios no suministrados:

- Cabinas de flujo laminar.
- Kits de extracción de ácidos nucleicos (ver recomendaciones en «Procedimiento del ensayo»).
- Termociclador qRT-PCR.
- Micropipetas de precisión.
- Puntas estériles con filtro.
- Microcentrífuga.
- Cabinas de PCR (recomendable).
- Vortex.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Conservar entre 2 y 8°C. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La caducidad indicada será válida siempre que los componentes se mantengan cerrados y conservados entre 2 y 8°C.

ESTABILIDAD DURANTE EL USO

VIRCELL POSITIVE CONTROL reconstituido: a temperatura entre -25°C y -15°C y usar hasta su fecha de caducidad. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.

VIRCELL RT-PCR MIX reconstituido: a temperatura entre -25°C y -15°C y usar hasta su fecha de caducidad. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.

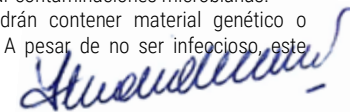
Resto de componentes: Fecha indicada en envase a 2-8°C.

VIRCELL RT-PCR MIX una vez reconstituidos deben ser utilizados en el mismo momento, manteniéndolos hasta su uso en una gradilla fría protegidos de la luz.

VIRCELL, S.L. no se responsabiliza de la inadecuada utilización de los reactivos contenidos en el kit.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.
2. El producto está indicado únicamente para personal con formación para la técnica.
3. El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables.
4. Use únicamente los protocolos descritos en este prospecto. Si las condiciones no son las especificadas, los resultados pueden ser erróneos.
5. Use equipamiento de protección individual cuando se manipulen las muestras y los reactivos. Lávese las manos adecuadamente tras la manipulación de las muestras y los reactivos. Todos los procedimientos deben llevarse a cabo de acuerdo con las normas de seguridad aprobadas.
6. Utilizar puntas de pipeta diferentes y limpias para cada fase del ensayo. Utilizar solo material limpio y preferentemente desechable.
7. No pipetear con la boca.
8. No utilizar en caso de deterioro del envase.
9. No use el kit tras su fecha de caducidad.
10. No dejar los reactivos a temperatura diferente a la recomendada más tiempo del absolutamente necesario.
11. Mantenga los recipientes para muestras y reactivos cerrados mientras no se estén utilizando.
12. Evite el uso de muestras sometidas a ciclos repetidos de congelación-descongelación.
13. Usar en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas.
14. Los componentes de este equipo podrán contener material genético o sustancias de origen animal y/o humano. A pesar de no ser infeccioso, este



material debería ser manipulado como potencialmente infeccioso. Todos los materiales deberían manipularse y eliminarse como potencialmente infecciosos. Observe la regulación local en materia de residuos.

15. Todo el material no usado debe ser desechado de acuerdo a la regulación aplicable.

16. Usar solo componentes del kit. No mezclar los componentes de diferentes kits o fabricantes. Solo VIRCELL NEGATIVE CONTROL, VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION y VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION son compatibles con los equivalentes en otras referencias y lotes de RTPCR VIRCELL.

17. Las muestras deben ser tratadas como si fuesen infecciosas utilizando procedimientos de seguridad del laboratorio. Mantener limpias y desinfectadas todas las superficies de trabajo con una solución recién preparada de hipoclorito sódico 0,5% en agua desionizada o destilada.

18. Para obtener resultados más fiables es aconsejable ensayar las muestras lo antes posible después de la recogida de las mismas. No se han probado diferentes tiempos de almacenamiento durante el envío de las muestras.

19. Se recomienda tener dos áreas de trabajo independientes para la realización del test: área de Pre-Amplificación y área de Amplificación.

20. Debido a la alta sensibilidad analítica del test, hay que extremar las precauciones para preservar la pureza de los reactivos del kit y las mezclas de amplificación. Todos los reactivos usados deben tener el máximo nivel de pureza.

21. Se recomienda el uso de kits de purificación de ADN convencionales.

22. Cualquier incidente grave relacionado con el producto deberá comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que estén establecidos el usuario y/o el paciente.

CONDICIONES DE RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El kit puede utilizarse con muestras clínicas como la orina y los exudados endocervicales y perianales.

Evite retrasos en el transporte y las investigaciones de laboratorio. Las muestras pueden ser almacenadas a 2-8°C hasta 72 horas después de su recogida, o a una temperatura entre -25°C y -15°C durante periodos más largos de tiempo.

PREPARACIÓN DEL PRODUCTO

Todos los reactivos suministrados están listos para su uso, excepto VIRCELL RT-PCR MIX [1] y VIRCELL POSITIVE CONTROL [3].

[1] VIRCELL RT-PCR MIX. Para su reconstitución añadir 10 µl de VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION [5] por tubo.

⚠ VIRCELL RT-PCR MIX reconstituido debe usarse justo después de añadir la solución de reconstitución y debe mantenerse protegido de la luz en una gradilla fría hasta su uso.

[3] VIRCELL POSITIVE CONTROL. Para su reconstitución, seguir los siguientes pasos:

- Centrifugar el tubo correspondiente durante 5 segundos a 5000 g.
- Añadir 100 µl de VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION [6].
- Mezclar usando el vórtex durante 1-2 segundos.
- Centrifugar el tubo durante 5 segundos a 5000 g.

Una vez reconstituido, VIRCELL POSITIVE CONTROL [3] puede ser congelado a una temperatura entre -25°C y -15°C para ser usado en reacciones posteriores.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Extracción de ADN (realizado en la zona de Pre-Amplificación):
 - 1.1. Se recomienda utilizar un kit de extracción comercial para la extracción de ADN. Para el uso de kits de extracción comerciales, seguir las instrucciones del fabricante. Consultar con el servicio de atención al cliente.
2. Amplificación por RT-PCR (realizado en la zona de Amplificación):
 - 2.1. Reconstitución del VIRCELL RT-PCR MIX: la placa de 96 tubos proporcionada puede ser dividida fácilmente entre una o más tiras de 8 tubos dependiendo de las muestras a analizar. Añadir 10 µl de VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION [5] por tubo. Mantener frío tras reconstitución/descongelación.
 - 2.2. Adición de la muestra: Añadir 10 µl de cada muestra de ADN extraído a cada tubo. Añadir 10 µl de VIRCELL POSITIVE CONTROL [3] y VIRCELL NEGATIVE CONTROL [4] a los tubos correspondientes. El control negativo es agua.
 - 2.3. Asegure los tapones VIRCELL RT-PCR MIX CAPS [7] en los tubos.
 - 2.4. Se recomienda centrifugar brevemente la placa/tiras de tubos con el fin de asegurar que el contenido del vial está en el fondo del tubo.
 - 2.5. Programa RT-PCR: Introducir los tubos de PCR en el termociclador a tiempo real y ejecute el siguiente programa *:

1 ciclo	95 °C	3 minutos
45 ciclos	95 °C	15 segundos
	58 °C	45 segundos*

* Lectura de datos de fluorescencia (FAM, HEX, Texas Red, Cy5 y Q705).

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Cada lote se somete a control de calidad interno antes de su liberación asegurando el cumplimiento de especificaciones estrictas.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN POR EL USUARIO

Es recomendable incluir un control negativo en cada ensayo. El control negativo monitorizará la contaminación del reactivo o ambiental.

Se recomienda incluir un control positivo en cada ensayo. El control positivo monitoriza los fallos de los reactivos y el correcto funcionamiento del procedimiento esencial.

El programa de análisis del termociclador posiblemente calcule automáticamente los valores de fluorescencia basal (umbral o threshold) basado en la curva de amplificación para cada una de las dianas (canales de fluorescencia). En cualquier caso, se recomienda analizar individualmente y establecer un umbral para cada diana. Para establecer el umbral de cada canal se recomienda utilizar como referencia las curvas de amplificación del control positivo y negativo. El valor umbral se debería fijar al inicio del aumento exponencial de fluorescencia, y por encima de la fluorescencia basal de la reacción.

La interpretación del resultado de los controles es el siguiente:

CONTROL	CT (FAM)	NG (HEX/VIC)	TV (Cy5)	MG (Texas/ROX)	IC (Q705)	Interpretación
VIRCELL STD POSITIVE CONTROL	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Correcto
	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Inválido
VIRCELL NEGATIVE CONTROL	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Correcto
	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Inválido

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La interpretación de los resultados se describe en las tablas que figuran a continuación:

RESULTADO	CT (FAM)	NG (HEX/VIC)	TV (Cy5)	MG (Texas/ROX)	IC (Q705) ¹	Interpretación
1	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Inválido (relacionado con la muestra/kit/configuración)
2	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Negativa
3	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT
4	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	NG

RESULTADO	CT (FAM)	NG (HEX/VIC)	TV (Cy5)	MG (Texas/ROX)	IC (Q705) ¹	Interpretación
5	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	TV
6	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	MG
7	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + NG
8	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + TV
9	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + MG
10	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	NG + MG
11	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	NG + TV
12	Sin amplificación o Ct >40	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	TV + MG
13	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + NG + TV
14	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + TV + MG
15	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + NG + MG
16	Sin amplificación o Ct >40	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	NG + TV + MG
17	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40)	Amplificación (Ct < 40) o sin amplificación	CT + NG + TV + MG

¹ En caso de un alto número copias del ácido nucleico diana, la amplificación del control interno (CI) en los resultados 3 al 17 de la tabla anterior puede verse afectada. La amplificación tardía o ausencia de amplificación del CI no varía la interpretación del resultado.

En caso de que el resultado sea inválido o no concluyente, se recomienda volver a extraer el ADN de la muestra original y volver a analizar. En caso de que no amplifique el control interno, se podría suponer una extracción inadecuada de los ácidos nucleicos o inhibición de la amplificación. Se recomienda analizar una nueva muestra.

LIMITACIONES DE USO

- Este kit está diseñado para ser utilizado con orina y exudados endocervical y perianal humanos. La funcionalidad con otros tipos de muestras no ha sido evaluada.
- Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos.
- La detección de los ácidos nucleicos de los patógenos depende del número de organismos presentes en la muestra y podría verse afectado por los métodos de recogida de muestras, factores del paciente, estadio de la infección y/o cepa. También pueden producirse resultados falsos negativos si hay inhibidores de la amplificación presentes en la muestra. Deben utilizarse métodos validados de extracción de ácidos nucleicos para ADN bacteriano y protozoario.
- Los resultados del test son cualitativos. No existe correlación entre la magnitud del resultado positivo y el número de microorganismos en la muestra.
- El test solo funciona dentro de los límites de las regiones genómicas en las que las sondas han sido diseñadas. Debido a la alta variabilidad de los genomas ADN es posible que ciertos subtipos no sean detectados. En el momento del diseño, no se detectaron mutaciones de las regiones diana.
- Un resultado negativo no excluye la presencia del microorganismo en niveles por debajo del límite de detección del ensayo.
- Un test positivo no excluye la posibilidad de que otros patógenos estén presentes.
- Los valores obtenidos en el estudio de prestaciones de sensibilidad y especificidad para *Chlamydia trachomatis* corresponden al total de muestras ensayadas y pueden variar en función del tipo de muestra.
- Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos.

CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Chlamydia trachomatis

Se ensayaron muestras de orina y exudados endocervical y perianal humanos frente a un kit comercial de PCR en tiempo real o se caracterizaron externamente.

Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad).

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº muestras	224	
Sensibilidad (%)	99	
	95% CI	97-100
Especificidad (%)	100	
	95% CI	90-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	97	
LR+/LR-	-1,00 / -0,98	
Verdaderos positivos	187	
Verdaderos negativos	36	
Falsos positivos	0	
Falsos negativos	1	
Dudosos	0	

CI: Intervalo de confianza
PPV: Valor predictivo positivo
NPV: Valor predictivo negativo
LR+: Coeficiente de verosimilitud positivo
LR-: Coeficiente de verosimilitud negativo

Mycoplasma genitalium

Se ensayaron muestras de orina y exudados endocervical y perianal humanos frente a un kit comercial de PCR en tiempo real o se caracterizaron externamente. Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad).

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº muestras	103	
Sensibilidad (%)	99	
	95% CI	92-100
Especificidad (%)	100	
	95% CI	90-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	97	
LR+/LR-	-1,00 / -0,98	

Verdaderos positivos	66
Verdaderos negativos	36
Falsos positivos	0
Falsos negativos	1
Dudosos	0

CI: Intervalo de confianza
 PPV: Valor predictivo positivo
 NPV: Valor predictivo negativo
 LR+: Coeficiente de verosimilitud positivo
 LR-: Coeficiente de verosimilitud negativo

Neisseria gonorrhoeae

Se ensayaron muestras de orina y exudados endocervical y perianal humanos frente a un kit comercial de PCR en tiempo real o se caracterizaron externamente. Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad).

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº muestras	180
Sensibilidad (%)	99
	95% CI
Especificidad (%)	100
	95% CI
PPV (%)	100
NPV (%)	95
LR+/LR-	-1,00 / -0,98
Verdaderos positivos	142
Verdaderos negativos	36
Falsos positivos	0
Falsos negativos	2
Dudosos	0

CI: Intervalo de confianza
 PPV: Valor predictivo positivo
 NPV: Valor predictivo negativo
 LR+: Coeficiente de verosimilitud positivo
 LR-: Coeficiente de verosimilitud negativo

Trichomonas vaginalis

Se ensayaron muestras de orina y exudados endocervical y perianal humanos frente a un kit comercial de PCR en tiempo real o se caracterizaron externamente. Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad).

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº muestras	79
Sensibilidad (%)	98
	95% CI
Especificidad (%)	100
	95% CI
PPV (%)	100
NPV (%)	97
LR+/LR-	-0,99 / -0,97
Verdaderos positivos	42
Verdaderos negativos	36
Falsos positivos	0
Falsos negativos	1
Dudosos	0

CI: Intervalo de confianza
 PPV: Valor predictivo positivo
 NPV: Valor predictivo negativo
 LR+: Coeficiente de verosimilitud positivo
 LR-: Coeficiente de verosimilitud negativo

PRECISIÓN

4 muestras (2 positivas y los controles positivo y negativo) se amplificaron 2 veces en 2 ensayos realizados por día en 2 termocicladores qRT-PCR diferentes durante 20 días consecutivos. Las muestras se extrajeron utilizando OptiPure Viral Autoplate en el instrumento M4800 (TANBead) y se ejecutaron en CFX96 (Bio-Rad). Se ha determinado precisión intraensayo, precisión interensayo, precisión entre días y precisión entre laboratorios.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Chlamydia trachomatis

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Control positivo	0,4	0,4	0,7	0,9
Muestra positiva 1	0,9	0,4	0,7	1,2
Muestra positiva 2	0,8	0,9	0,7	1,4
Control negativo	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación

CV: Coeficiente de variación

Mycoplasma genitalium

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Control positivo	0,6	0,9	0,6	1,2
Muestra positiva 1	0,8	1,3	0,4	1,5
Muestra positiva 2	0,8	1,0	0,5	1,4
Control negativo	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación

CV: Coeficiente de variación

Neisseria gonorrhoeae

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Control positivo	1,5	0,5	0,6	1,6
Muestra positiva 1	0,5	0,8	0,4	1,0
Muestra positiva 2	0,8	0,9	0,5	1,3
Control negativo	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación

CV: Coeficiente de variación

Trichomonas vaginalis

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Control positivo	2,8	0,7	2,4	3,6
Muestra positiva 1	2,2	2,2	2,4	4,0
Muestra positiva 2	1,8	1,4	2,5	3,4
Control negativo	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación	Sin amplificación

CV: Coeficiente de variación

REACCIONES CRUZADAS

La especificidad se confirmó ensayando un panel de distintos microorganismos causantes de enfermedades de transmisión sexual o presentes en muestras humanas: *Candida auris*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, coronavirus, citomegalovirus, enterovirus 68, virus de Epstein-Barr, *Escherichia coli* (EAEC), *Gardnerella vaginalis*, *Helicobacter pylori*, herpes simplex tipo 1, herpes simplex tipo 2, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria meningitidis* serogrupo A, *Neisseria mucosa*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, papilomavirus tipo 16 (células Ca Ski), papilomavirus tipo 18 (células HeLa), *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* (mecA-), *Treponema pallidum*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, *Staphylococcus epidermidis*,

[Firma manuscrita]

BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

Atopobium vaginae, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Lactobacillus jensenii*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* y *Pseudomonas aeruginosa*.

No se hallaron reacciones cruzadas frente a estos organismos.

Además, se realizó un análisis in-silico de las secuencias de oligonucleótidos/sondas comparándolas con otros microorganismos que podrían encontrarse en muestras clínicas. Se analizó la secuencia de 14 microorganismos que podían encontrarse en una muestra clínica: *Mobiluncus mulieris*, *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Atopobium parvulum*, *Bacteroides caccae*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Candida metapsilosis*, *Haemophilus ducreyi*, virus de la hepatitis A, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, *Lactobacillus crispatus* y *Prevotella bivia*.

No se halló una homología superior al 80% en ninguno de los microorganismos analizados.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El LoD (límite de detección) para CT, NG, TV y MG fue determinada utilizando controles ADN (AMPLIRUN® CHLAMYDIA TRACHOMATIS DNA CONTROL; AMPLIRUN® NEISSERIA GONORRHOEAE DNA CONTROL; AMPLIRUN® TRICHOMONAS VAGINALIS DNA CONTROL; AMPLIRUN® MYCOPLASMA GENITALIUM DNA CONTROL).

Se determinó un LoD (límite de detección) preliminar mediante el ensayo de diluciones seriadas de muestras cuantificadas de CT, NG, TV y MG. El ensayo fue realizado utilizando el termociclador CFX96 (Bio-Rad).

Una vez que se estableció un LoD aproximado, la concentración final se confirmó analizando 3 diluciones seriadas. Un mínimo de 20 réplicas fueron testadas para cada dilución.

El LoD se determinó como la concentración más baja en la que $\geq 95\%$ de las réplicas son positivas.

	CT	MG	NG	TV
LoD (copias/ μ L)	1,3	1,4	0,18	0,01
LoD (copias/mL)	1300	1400	180	10
LoD (copias/reacción)	13	14	1,8	0,1

INCLUSIVIDAD

Se realizó un análisis in-silico de los fragmentos diana del ensayo para determinar la inclusividad de las diferentes secuencias de CT, NG, TV y MG disponibles.

El criterio seleccionado para incluir las diferentes secuencias en el análisis fue geográfico y el momento en que se depositó la secuencia. En el análisis de cada microorganismo se incluyeron diferentes linajes, tipos o subtipos.

Se utilizó la base de datos de GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) para acceder a las secuencias.

Los resultados del análisis muestran que no se espera que tenga un impacto significativo en el procedimiento de amplificación / detección. Por lo tanto, no se espera que se vea afectada la reactividad de los oligonucleótidos específicos incluidos en la mezcla de PCR.

CONTROL EXTERNO

Los controles necesarios pero que no están contenidos en el kit incluyen los siguientes:

- como control positivo de extracción, AMPLIRUN® TOTAL CT/NG/TV/MGE CONTROL (SWAB) Cat. MBTC024-R (Vircell)

Los controles externos sirven para monitorizar cualquier contaminación cruzada que ocurra durante el proceso de extracción, así como para validar los reactivos de extracción utilizados.

SÍMBOLOS UTILIZADOS EN LA ETIQUETA



Producto para el diagnóstico *in vitro*



Usar antes de (fecha de caducidad)



Conservar entre x-y°C



Contiene suficiente para <n> pruebas



Lote



Referencia (catálogo)



Consultar instrucciones de uso



Reconstituir en <X> μ l



Fabricante

BIBLIOGRAFÍA

1. Ceovic, R. and Gulin, S.J. 2015. Lymphogranuloma venereum: diagnostic and treatment challenges. *Infection and Drug Resistance*, Mar, 8:39-47. doi: 10.2147/IDR.S57540.
2. Golparian, D. et al. 2013. Analytical Specificity and Sensitivity of the APTIMA Combo 2 and APTIMA GC Assays for Detection of Commensal Neisseria Species and Neisseria gonorrhoeae on the Gen-Probe Panther Instrument. *Sex Transm Dis*, Feb, 40(2):175-178. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3182787e45.
3. Ison, C.A. et al. 2013. Evolution of Neisseria gonorrhoeae is a continuing challenge for molecular detection of gonorrhoea: false negative gonococcal porA mutants are spreading internationally. *Sex Transm Infect*, May, 89(3):197-201. doi:10.1136/sextrans-2012-050829.
4. Papp, J.R. et al. 2014. Recommendations for the Laboratory-Based Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports*, March, 63(2).
5. Pillay, A. et al. 2007. Comparison of a TaqMan-based real-time polymerase chain reaction with conventional tests for the detection of Trichomonas vaginalis. *Sex Transm Infect*, Apr, 83(2):126-129. doi: 10.1136/STD.2006.022376.
6. Shipitsyna, E. et al. 2010. Guidelines for the Laboratory Diagnosis of Mycoplasma genitalium Infections in East European Countries. *Acta Derm Venereol*, Sep, 90(5):461-467. doi: 10.2340/00015555-0929.
7. Unemo, M. et al. 2010. The Swedish new variant of Chlamydia trachomatis: genome sequence, morphology, cell tropism and phenotypic characterization. *Microbiology*, May, 156(Pt 5):1394-1404. doi: 10.1099/mic.0.036830-0.
8. World Health Organization. 2013. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. ISBN 978 92 4 150584 0.

Nº de la versión actual: L-RTPCR006-LPD-ES-01

Fecha: 2022/04/19

Actualizaciones: Nueva referencia

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: Bioars S.A. - PM 1127-446

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 13 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.09.21 11:13:29 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.09.21 11:13:30 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004975-23-4

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

Expediente N° 1-0047-3110-004975-23-4

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 un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: Detección de patógenos de enfermedades de transmisión sexual

Marca comercial: VIRCELL

Modelos:

CT/NG/TV/MG REALTIME PCR KIT

Indicación/es de uso:

Kit de RT-PCR en tiempo real para detectar ácidos nucleicos de Chlamydia trachomatis (CT), Neisseria gonorrhoeae (NG), Trichomonas vaginalis (TV) y Mycoplasma genitalium (MG) en orina y exudados

endocervical y perianal humanos.

Forma de presentación: A) Viales para alicuotar reacciones.

B) Placa de pocillos divisible.

A); B) 96 pruebas.

Contienen:

A)

- VIRCELL STD RT-PCR MIX: 6 viales que contienen Taq polimerasa, tampón y oligonucleótidos/sondas específicas para la detección de *Chlamydia trachomatis* (CT) (gen *pmpH* y una región específica dentro del plásmido *pCTT1*), *Neisseria gonorrhoeae* (NG) (gen *opaI*), *Trichomonas vaginalis* (TV) (gen *G3hp*) y *Mycoplasma genitalium* (MG) (gen *mgpA*); y oligonucleótidos/sondas para el control interno. 16 reacciones por vial. Liofilizado.
- VIRCELL STD POSITIVE CONTROL: 1 vial con mezcla de ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados para usar como control positivo.
- VIRCELL NEGATIVE CONTROL: 200 μ L de agua desionizada, para usar como control negativo.
- VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION: 2 x 1 mL de solución acuosa para reconstituir el PCR mix.
- VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μ L de solución acuosa para reconstituir el control positivo.

B)

VIRCELL STD RT-PCR MIX LPD: 1 placa de 96 pocillos divisible en 12 tiras de 8 que contienen Taq polimerasa, tampón y oligonucleótidos/sondas específicas para la detección *Chlamydia trachomatis* (CT) (gen *pmpH* y una región específica dentro del plásmido *pCTT1*), *Neisseria gonorrhoeae* (NG) (gen *opaI*), *Trichomonas vaginalis* (TV) (gen *G3hp*) y *Mycoplasma genitalium* (MG) (gen *mgpA*); y oligonucleótidos/sondas para el control interno. 1 reacción por tubo. Liofilizado.

- VIRCELL STD POSITIVE CONTROL: 1 vial con mezcla de ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados para usar como control positivo.
- VIRCELL NEGATIVE CONTROL: 200 μ L de agua desionizada, para usar como control negativo.
- VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION: 2 x 1 mL de solución acuosa para reconstituir el PCR mix.
- VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μ L de solución acuosa para reconstituir el control positivo.
- VIRCELL RT-PCR MIX CAPS: 12 tiras de 8 tapones RT-PCR compatibles.

Período de vida útil: A); B): 18 meses, conservado a 2-8 °C

Nombre del fabricante:

Vircell,s.l.

Lugar de elaboración:

Parque Tecnológico de la Salud. Avicena 8, 18016. Granada, España.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 1127-446 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-004975-23-4

N° Identificadorio Trámite: 51853

AM

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.10.02 19:33:12 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.10.02 19:33:12 -03:00