



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001896-24-4

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-001896-24-4 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones WM Argentina 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: HPV Direct Flow Chip kit.

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

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

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

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

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

Por ello;

LA ADMINISTRADORA NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: HPV Direct Flow Chip kit, de acuerdo con lo solicitado por WM Argentina S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2024-59011699-APN-DVPCYAR#ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 794-813 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

ARTÍCULO 6°.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4°. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: HPV Direct Flow Chip kit

Marca comercial: Vitro S.A.

Modelos:

1)HPV Direct Flow Chip Kit (HS-12)- Ref: MAD-003930MU-HS12-24

2)HPV Direct Flow Chip Kit (HS-12)- Ref: MAD-003930MU-HS12-48

Indicación/es de uso:

Indicación de uso: HPV Direct-Flow CHIP es un sistema de detección in vitro diseñado para screening y genotipado simultaneo de 35 genotipos HPV (Virus del Papiloma Humano) de alto riesgo oncogénico (HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82) y bajo riesgo oncogénico (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81 y 84) mediante PCR (polymerase chain reaction), seguido de hibridación automática por reverse dot-blot, basada en la tecnología DNA-Flow.

Forma de presentación: 1) HPV Direct Flow Chip Kit (HS-12)- Ref: MAD-003930MU-HS12-24: Para 24 tests-
Uso manual

a) HPV Direct Flow Chip Kit (PCR Reagents)- Reactivos para PCR (Ref: MAD-003930MU-P-HS12-24):

- HPV PCR Mix (Ref: MAD-003930MU-MIX): 3 tiras x 8 tubos (liofilizado)
- RNASE /DNASE- FREE Distille Water (Ref: MAD-DDW): Frasco x 60 ml
- HPV Chip (HS) (Ref:MAD-003930M-CH-HS-24): 1 x 24 unidades

b) Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual) -Reactivos para hibridación reversa Tipo I (Ref: MAD-003925M-HS-12):

- Hybridization Solution (Reagent A) (Ref: MAD003930MA-HS12-24): Frasco x 40 ml
- Blocking Solution (Reagent B)(Ref: MAD-003930MB-HS12-24): Frasco x 10ml
- Streptavidin Alkaline Phosphatase (Reagent C) (Ref:MAD-003930MC-HS12-24): Frasco x 10 ml
- Washing Buffer I (Reagent D) (Ref: MAD-003930MD-HS12-24): Frasco x 35 ml
- Reagent E (Ref:MAD-003930ME): Frasco x 10 ml
- Washing Buffer II (Reagent F) (Ref:MAD-003930MF-HS12-24): Frasco x 18ml

2)HPV Direct Flow Chip Kit (HS-12)- Ref: MAD-003930MU-HS12-48: Para 48 tests- Uso manual

a) Reactivos para PCR (Ref: MAD-003930MU-P-HS12-48):

- HPV PCR Mix (Ref: MAD-003930MU-MIX): 6 tiras x 8 tubos (lío filizado)
- RNASE/DNASE- FREE Distilled Water (Ref: MAD-DDW): 2 Frascos x 60 ml (120 ml)
- HPV Chip (HS) (Ref:MAD-003930M-CH-HS-24): 2 x 24 unidades

b) Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual) Reactivos para hibridación reversa Tipo I (Ref: MAD-003925M-HS12-48)

- Hybridization Solution (Reagent A) (Ref: MAD003930MA-HS12-48): Frasco x 80 ml
- Blocking Solution (Reagent B)(Ref: MAD-003930MB-HS12-48): Frasco x 18 ml
- Streptavidin Alkaline Phosphatase (Reagent C) (Ref:MAD-003930MC-HS12-48): Frasco x 18 ml
- Washing Buffer I (Reagent D) (Ref: MAD-003930MD-HS12-48): Frasco x 70 ml
- Reagent E (Ref:MAD-003930ME-HS12-48) : Frasco x 18 ml
- Washing Buffer II (Reagent F) (Ref:MAD-003930MF-HS12-48): Frasco x 35 ml

Período de vida útil y condición de conservación: -Reactivos para PCR (Ref: MAD-003930MU-P-HS12-24) y (Ref: MAD-003930MU-P-HS12-48): Estables durante 24 meses a una temperatura de entre 2-8 °C y durante 18 meses a temperatura ambiente.

-Hybridization Reagents: Reagents A, B,D,E,F: Estables durante 18 meses almacenados a 2-8 °C

-Hybridization Reagents: Reagent C: Estables durante 12 meses almacenados 2-8°C

-HPV Direct Flow Chip kit: Estables al menos durante 24 meses almacenados a 2-8 °C y al menos 6 meses si han sufrido previamente un calentamiento a 37°C o 50°C durante 14 días.

Nombre del fabricante:

Vitro S.A.

Lugar de elaboración:

Luis Fuentes Bejarano 60, Edificio Nudo Norte- Local 3, 41020- Sevilla – España

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

N° 1-0047-3110-001896-24-4

N° Identificadorio Trámite: 57440

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta Maria
Date: 2024.06.06 18:02:48 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.06 18:02:55 -03:00

HPV Direct Flow Chip Kit

Detección y genotipado del virus del papiloma humano mediante amplificación e hibridación específica

para todas las plataformas hybriSpot

REF	Ref. MAD-003930MU-HS12-24	▽	24 test
	Ref. MAD-003930MU-HS12-48		48 test
	Ref. MAD-003930MU-HS24-24		24 test
	Ref. MAD-003930MU-HS24-48		48 test
	Ref. MAD-003930MW-HS12-48		48 test
	Ref. MAD-003930MW-HS-48		48 test
	Ref. MAD-003930ML-HS12-48		48 test
	Ref. MAD-003930ML-HS-48		48 test

Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*



WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.080



WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



TABLA DE CONTENIDOS

1	USO PREVISTO	3
2	PRINCIPIO DEL MÉTODO	4
3	COMPONENTES.....	4
4	MATERIAL Y EQUIPAMIENTO ADICIONAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO	8
4.1	MATERIAL ADICIONAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO	8
4.2	EQUIPAMIENTO:	8
5	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD	9
5.1	Condiciones de almacenamiento.....	9
5.2	Estabilidad de los componentes en uso:.....	9
5.3	Estabilidad de los componentes en transporte:	10
6	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	10
7	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	11
7.1	Recomendaciones de almacenamiento de las muestras:.....	11
8	PREPARACIÓN DE LA PCR.....	19
8.1	Reacción de PCR para formato de mix “monotest lyo”	19
8.2	Procedimiento para formato HPV-Direct Flow Chip Bulk Lyo y Wet:	20
9	HIBRIDACIÓN REVERSA POR FLOW-THROUGH.....	20
9.1	Muestra clínica directa y muestra purificada:	21
9.2	Producto de amplificación obtenido con el kit Vitro HPV Screening (Vitro, S.A. Ref. MAD-003949M).....	22
10	PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD	24
11	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	25
12	CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO.....	30
12.1	Funcionamiento Analítico	30
12.2	Funcionamiento clínico	32
13	LIMITACIONES.....	33
14	PROBLEMAS Y SOLUCIONES	34
15	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
16	SÍMBOLOS DE LA ETIQUETA Y CAJA	36
17	HISTÓRICO DE CAMBIOS	36



WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.080



WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TÉCNICA
BIOQUÍMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



1 USO PREVISTO

HPV Direct Flow Chip Kit es un kit de diagnóstico *in vitro* para la detección del virus del papiloma humano (HPV). La infección con HPV es un factor esencial en carcinogénesis cervical y anogenital (zur Hausen *et al.*, 1974; Walboomer *et al.*, 1999; zur Hausen, 1996; zur Hausen, 2002). En base a su asociación con distintos grados de lesiones cervicales, los diferentes genotipos de HPV se clasifican en genotipos de alto riesgo u oncogénicos, que pueden inducir carcinogénesis; y HPVs de bajo riesgo, que pueden causar verrugas genitales (Muñoz *et al.*, 2003).

El kit HPV Direct Flow Chip es un kit de diagnóstico *in vitro* diseñado para la detección cualitativa y genotipado simultáneo de 35 genotipos de HPV (alto riesgo- HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82 y bajo riesgo - HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81 y 84) mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa), seguida de hibridación reversa sobre una membrana que contiene sondas específicas. El kit está optimizado tanto para el uso directo (sin purificación previa del DNA) como con extracciones de DNA de muestras clínicas humanas de diferente origen tales como citologías en medio líquido, torundas cervicales y anales, muestras cérvico-vaginales obtenidas con el kit de auto toma Cervico-Vaginal Self Collection Kit, citologías en medio de transporte de Digene (STM) y secciones de tejido parafinado. Es más, el kit ha sido validado con el producto de amplificación obtenido con el kit "Vitro HPV Screening Kit" (Vitro, S.A. Ref. MAD-003949M) pudiéndose hibridar directamente en los chips HPV para obtener resultados de genotipado de HPV.

El HPV Direct Flow Chip Kit presenta diversas modalidades que se adaptan a los equipos disponibles en el laboratorio:

- Manual: el operario debe llevar a cabo la preparación de la reacción de amplificación en un termociclador adecuado y posteriormente realizar la hibridación en el equipo hybriSpot 12 (VIT-HS12).
- Automático: la amplificación se lleva a cabo en un termociclador adecuado y, tras la desnaturalización del producto de PCR, este se transfiere al equipo hybriSpot 24 (VIT-HS24) donde la hibridación y lectura de resultados se lleva a cabo de forma automatizada. En el caso de utilizar los equipos hybriSpot 12 PCR Auto (VIT-HS12A) o hybriSpot 24 PCR AUTO (VIT-HS24A), se puede realizar sin interrupción la reacción de amplificación, la desnaturalización del producto de PCR, el proceso de hibridación y la lectura de resultados.

HPV Direct Flow Chip Kit está indicado para la detección y genotipado de 35 tipos de HPV en pacientes de cualquier edad o sexo con lesiones sospechosas de infección por HPV, así como para el genotipado de muestras procedentes del cribado poblacional del HPV. Esta prueba es para uso profesional en laboratorios con personal formado en técnicas de biología molecular aplicadas a diagnóstico.

La infección por el virus del papiloma humano se puede dar tanto en hombres como en mujeres con independencia de la edad o la condición social. En general este tipo de virus se adquiere por vía sexual, pero también se puede contraer verticalmente de madre a hijo, por contacto con la mucosa cervical durante el parto, por vía transplacentaria y menos frecuentemente por transmisión horizontal durante la infancia. En la mayoría de los casos, la infección por HPV es asintomática, transitoria y puede pasar desapercibida; en otros, las manifestaciones clínicas son muy diversas y comprenden desde simples verrugas y otros procesos benignos, hasta el desarrollo de neoplasias anogenitales tan severas como el cáncer de cuello de útero (el HPV es la principal causa de este tipo de cáncer en mujeres), cáncer anal, de pene, vagina e incluso en otras zonas distantes como la

orofaringe y la cavidad oral, en general. La detección y genotipado de la infección por HPV es vital para reducir sustancialmente las complicaciones que pueden derivar de la misma. Por tanto, el uso final previsto de este kit es la ayuda en el diagnóstico de infección por HPV en combinación con factores de riesgo clínicos y epidemiológicos.

Estado Microbiológico: Producto no estéril.

2 PRINCIPIO DEL MÉTODO

La metodología de HPV Direct Flow Chip Kit se basa en la amplificación de un fragmento de la región L1 del genoma del papilomavirus mediante PCR, seguida de hibridación en membrana con sondas específicas de DNA. El proceso de hibridación se realiza mediante la tecnología DNA-Flow en plataformas hybriSpot, tanto de forma automática como manual. Los amplicones biotinilados generados tras la PCR se hibridan en membranas que contienen un array de sondas específicas para cada diana, así como sondas de control de amplificación e hibridación. La tecnología DNA-Flow permite una unión muy rápida entre el producto de PCR y su sonda específica en un ambiente tridimensional poroso en contraste con la hibridación en superficie convencional. Una vez producida la unión entre los amplicones específicos y sus sondas correspondientes, la señal se visualiza mediante una reacción inmunoenzimática colorimétrica con Estreptavidina-Fosfatasa y un cromógeno (NBT-BCIP) que genera precipitados insolubles en la membrana en aquellas posiciones en las que ha habido hibridación. Los resultados son analizados automáticamente con el software hybriSoft™.

La conjunción de un método directo de amplificación a partir de muestras clínicas y la tecnología automatizada DNA-Flow, hacen que el sistema sea altamente sensible y rápido.

3 COMPONENTES

HPV Direct Flow Chip Kit se comercializa en ocho formatos distintos dependiendo del formato de la mix de PCR, el número de test y el tipo de plataforma de hibridación que se vaya a emplear.

Los diferentes formatos tienen componentes muy similares:

- HPV PCR Mix: Es una mix de PCR que contiene buffer, dNTPs, DNA Polimerasa, Uracil DNA Glicosilasa, agua libre de DNasa/RNasas y primers biotinilados. Los primers son específicos para la amplificación de los diferentes genotipos de HPV que se detectan con el kit (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82, 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81 y 84). Además, la mix contiene primers para amplificar DNA genómico humano usado como control interno de la calidad del material de partida y de amplificación. El formato "monotest lyo" de PCR Mix incluye 3 tiras de 8 tubos para 24 test, o bien, 6 tiras de 8 tubos para 48 test. En el formato "Bulk wet" la mix de PCR está incluida en un vial que contiene cantidad suficiente para realizar 48 test, y el formato "Bulk lyo" contiene mix de PCR liofilizada que una vez reconstituida tiene cantidad suficiente para realizar 48 test.
- Agua libre de DNasa/RNasa (MAD-DDW): Agua que se utiliza para el procesamiento de las muestras. También puede ser utilizada como control negativo.
- HPV Chips: Chips o membranas de nylon que contienen un array de oligonucleótidos específicos para cada una de las dianas del kit.
- Reactivos de hibridación: Reactivos necesarios para llevar el proceso de hibridación.

Los formatos/presentaciones del HPV Direct Flow Chip kit son los siguientes:

Presentaciones	Referencias	Nº Test	Plataformas
HPV Direct Flow Chip Kit (Manual)	MAD-003930MU-HS12-24	24	HS12
HPV Direct Flow Chip Kit (Auto)	MAD-003930MU-HS24-24	24	HS24, HS12A y HS24A
HPV Direct Flow Chip Kit (Manual)	MAD-003930MU-HS12-48	48	HS12
HPV Direct Flow Chip Kit (Auto)	MAD-003930MU-HS24-48	48	HS24, HS12A y HS24A
HPV Direct Flow Chip Kit (Manual Bulk Wet)	MAD-003930MW-HS12-48	48	HS12
HPV Direct Flow Chip Kit (Auto Bulk Wet)	MAD-003930MW-HS-48	48	HS24, HS12A y HS24A
HPV Direct Flow Chip Kit (Manual Bulk Lyo)	MAD-003930ML-HS12-48	48	HS12
HPV Direct Flow Chip Kit (Auto Bulk Lyo)	MAD-003930ML-HS-48	48	HS24, HS12A y HS24A

Tabla 1. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip Kit.

Componentes del kit en cada uno de los formatos disponibles:

- **Formatos Monotest liofilizados:**

HPV Direct Flow Chip Kit (Manual) para 24 test (Ref: MAD-003930MU-HS12-24)			
COMPONENTE (REFERENCIA)	CONTENIDO	CANTIDAD	
HPV Direct-Flow Chip Kit (HS12) (PCR Reagents) (Ref. MAD-003930MU-P-HS12-24)	Mix de PCR	1 ud.	
RNASE/DNASE-FREE DISTILLED WATER (Ref. MAD-DDW)	Agua libre de DNasa/RNasa	1 ud.	
HPV Chips (Ref. MAD-003930M-CH-HS-24)	Array de sondas de DNA específicas para los genotipos de HPV y los controles del kit.	1 ud.	
Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual) (Ref. MAD-003925M-HS12)	Reagent A (Ref. MAD-003930MA-HS12-24)	Hybridization solution	1 ud.
	Reagent B (Ref. MAD-003930MB-HS12-24)	Blocking solution	1 ud.
	Reagent C (Ref. MAD-003930MC-HS12-24)	Streptavidin-Alkaline Phosphatase	1 ud.
	Reagent D (Ref. MAD-003930MD-HS12-24)	Washing Buffer I	1 ud.
	Reagent E (Ref. MAD-003930ME-HS12-24)	Reagent E	1 ud.
	Reagent F (Ref. MAD-003930MF-HS12-24)	Washing Buffer II	1 ud.

Tabla 2. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip kit (Manual) monotest liofilizados para 24 test.

HPV Direct Flow Chip kit (Auto) para 24 test (Ref: MAD-003930MU-HS24-24)			
COMPONENTE (REFERENCIA)	CONTENIDO	CANTIDAD	
HPV Direct-Flow Chip Kit (HS24) (PCR Reagents) (Ref. MAD-003930MU-P-HS24-24)	Mix de PCR	1 ud.	
RNASE/DNASE-FREE DISTILLED WATER (Ref. MAD-DDW)	Agua libre de DNasa/RNasa	1 ud.	
HPV Chips (Ref. MAD-003930M-CH-HS-24)	Array de sondas de DNA específicas para los genotipos de HPV y los controles del kit.	1 ud.	
Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Auto) (Ref. MAD-003925M-HS)	Reagent A (Ref. MAD-003930MA-HS24-24)	Hybridization solution	1 ud.
	Reagent B (Ref. MAD-003930MB-HS24-24)	Blocking solution	1 ud.
	Reagent C (Ref. MAD-003930MC-HS24-24)	Streptavidin-Alkaline Phosphatase	1 ud.
	Reagent D (Ref. MAD-003930MD-HS24-24)	Washing Buffer I	1 ud.
	Reagent E (Ref. MAD-003930ME-HS24)	Reagent E	1 ud.

Tabla 3. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip Kit (Auto) monotest liofilizados para 24 test.



WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNELLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.080



WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TÉCNICA
BIOQUÍMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



HPV Direct Flow Chip Kit (Manual) para 48 test (Ref: MAD-003930MU-HS12-48)			
COMPONENTE (REFERENCIA)	CONTENIDO	CANTIDAD	
HPV Direct-Flow Chip Kit (HS12) (PCR Reagents) (Ref. MAD-003930MU-P-HS12-48)	Mix de PCR	1 ud.	
RNASE/DNASE-FREE DISTILLED WATER (Ref. MAD-DDW)	Agua libre de DNasa/RNasa	2 uds.	
HPV Chips (Ref. MAD-003930M-CH-HS-24)	Array de sondas de DNA específicas para los genotipos de HPV y los controles del kit.	2 uds.	
Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual) (Ref. MAD-003925M-HS12-48)	Reagent A (Ref. MAD-003930MA-HS12-48)	Hybridization solution	1 ud.
	Reagent B (Ref. MAD-003930MB-HS12-48)	Blocking solution	1 ud.
	Reagent C (Ref. MAD-003930MC-HS12-48)	Streptavidin-Alkaline Phosphatase	1 ud.
	Reagent D (Ref. MAD-003930MD-HS12-48)	Washing Buffer I	1 ud.
	Reagent E (Ref. MAD-003930ME-HS12-48)	Reagent E	1 ud.
	Reagent F (Ref. MAD-003930MF-HS12-48)	Washing Buffer II	1 ud.

Tabla 4. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip kit (Manual) monotest para 48 test.

HPV Direct Flow Chip kit (Auto) para 48 test (Ref: MAD-003930MU-HS24-48)			
COMPONENTE (REFERENCIA)	CONTENIDO	CANTIDAD	
HPV Direct-Flow Chip Kit (HS24) (PCR Reagents) (Ref. MAD-003930MU-P-HS24-48)	Mix de PCR	1 ud.	
RNASE/DNASE-FREE DISTILLED WATER (Ref. MAD-DDW)	Agua libre de DNasa/RNasa	2 uds.	
HPV Chips (Ref. MAD-003930M-CH-HS-24)	Array de sondas de DNA específicas para los genotipos de HPV y los controles del kit.	2 uds.	
Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Auto) (Ref. MAD-003925M-HS-48)	Reagent A (Ref. MAD-003930MA-HS24-48)	Hybridization solution	1 ud.
	Reagent B (Ref. MAD-003930MB-HS24-48)	Blocking solution	1 ud.
	Reagent C (Ref. MAD-003930MC-HS24-48)	Streptavidin-Alkaline Phosphatase	1 ud.
	Reagent D (Ref. MAD-003930MD-HS24-48)	Washing Buffer I	1 ud.
	Reagent E (Ref. MAD-003930ME-HS24-48)	Reagent E	1 ud.

Tabla 5. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip Kit (Auto) monotest para 48 test.

Formatos Bulk Wet:

HPV Direct Flow Chip Kit (Manual Bulk Wet) para 48 test (Ref: MAD-003930MW-HS12-48)			
COMPONENTE (REFERENCIA)	CONTENIDO	CANTIDAD	
HPV Direct Flow Chip Kit (Bulk Wet) (PCR Reagents) (Ref. MAD-003930MW-P-48)	HPV PCR mix (Ref. MAD-003930M-MIX-W)	Mix de PCR	1 ud.
RNASE/DNASE-FREE DISTILLED WATER (Ref. MAD-DDW)	Agua libre de DNasa/RNasa	2 uds.	
HPV Chips (Ref. MAD-003930M-CH-HS-24)	Array de sondas de DNA específicas para los genotipos de HPV y los controles del kit.	2 uds.	
Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual) (Ref. MAD-003925M-HS12-48)	Reagent A (Ref. MAD-003930MA-HS12-48)	Hybridization solution	1 ud.
	Reagent B (Ref. MAD-003930MB-HS12-48)	Blocking solution	1 ud.
	Reagent C (Ref. MAD-003930MC-HS12-48)	Streptavidin-Alkaline Phosphatase	1 ud.
	Reagent D (Ref. MAD-003930MD-HS12-48)	Washing Buffer I	1 ud.
	Reagent E (Ref. MAD-003930ME-HS12-48)	Reagent E	1 ud.
	Reagent F (Ref. MAD-003930MF-HS12-48)	Washing Buffer II	1 ud.

Tabla 6. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip kit (Manual Bulk Wet).

HPV Direct Flow Chip Kit (Auto Bulk Wet) para 48 test (Ref: MAD-003930MW-HS-48)			
COMPONENTE (REFERENCIA)		CONTENIDO	CANTIDAD
HPV Direct Flow Chip Kit (Bulk Wet) (PCR Reagents) (Ref. MAD-003930MW-P-48)	HPV PCR mix (Ref. MAD-003930M-MIX-W)	Mix de PCR	1 ud.
(RNASE/DNASE-FREE DISTILLED WATER) (ref. MAD-DDW)		Agua libre de DNasa/RNasa	2 uds.
HPV Chip (HS) (Ref. MAD-003930M-CH-HS-24)		Array de sondas de DNA específicas para los genotipos de HPV y los controles del kit.	2 uds.
Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Auto) (Ref. MAD-003925M-HS-48)	Reagent A (Ref. MAD-003930MA-HS24-48)	Hybridization solution	1 ud.
	Reagent B (Ref. MAD-003930MB-HS24-48)	Blocking solution	1 ud.
	Reagent C (Ref. MAD-003930MC-HS24-48)	Streptavidin-Alkaline Phosphatase	1 ud.
	Reagent D (Ref. MAD-003930MD-HS24-48)	Washing Buffer	1 ud.
	Reagent E (Ref. MAD-003930ME-HS48)	Reagent E	1 ud.

Tabla 7. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip Kit (Auto Bulk Wet).

- **Formatos Bulk Lyo**

HPV Direct Flow Chip kit (Manual Bulk Lyo) para 48 test (Ref: MAD-003930ML-HS12-48)			
COMPONENTE (REFERENCIA)		CONTENIDO	CANTIDAD
HPV Direct Flow Chip Kit (Bulk Lyo) (PCR Reagents) (Ref. MAD-003930ML-P-48)	HPV PCR mix (Ref. MAD-003930M-MIX-L)	Mix de PCR	1 ud.
	Reconstitution solution (Ref. MAD-LYO-SOL)	Solución de reconstitución	1 ud.
	Vial A (Ref. MAD-003900-VA)	Vial vacío	1 ud.
RNASE/DNASE-FREE DISTILLED WATER (Ref. MAD-DDW)		Agua libre de DNasa/RNasa	2 uds.
HPV Chips (Ref. MAD-003930M-CH-HS-24)		Array de sondas de DNA específicas para los genotipos de HPV y los controles del kit.	2 uds.
Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Ref. MAD-003925M-HS12-48)	Reagent A (Ref. MAD-003930MA-HS12-48)	Hybridization Solution	1 ud.
	Reagent B (Ref. MAD-003930MB-HS12-48)	Blocking Solution	1 ud.
	Reagent C (Ref. MAD-003930MC-HS12-48)	Streptavidin-Alkaline Phosphatase	1 ud.
	Reagent D (Ref. MAD-003930MD-HS12-48)	Washing Buffer I	1 ud.
	Reagent E (Ref. MAD-003930ME-HS12-48)	Reagent E	1 ud.
	Reagent F (Ref. MAD-003930MF-HS12-48)	Washing Buffer II	1 ud.

Tabla 8. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip kit (Manual Bulk Lyo).

HPV Direct Flow Chip Kit (Auto Bulk Lyo) para 48 test (Ref: MAD-003938ML-HS24-48)			
NOMBRE Y REFERENCIA		CONTENIDO	CANTIDAD
HPV Direct Flow Chip Kit (Bulk Lyo) (PCR Reagents) (Ref. MAD-003930ML-P-48)	HPV PCR mix (Ref. MAD-003930M-MIX-L)	Mix de PCR	1 ud.
	Reconstitution solution (Ref. MAD-LYO-SOL)	Solución de reconstitución	
	Vial A (Ref. MAD-003900-VA)	Vial vacío	
RNASE/DNASE-FREE DISTILLED WATER (Ref. MAD-DDW)		Agua libre de DNasa/RNasa	2 uds.
HPV Chips (Ref. MAD-003930M-CH-HS-24)		Array de sondas de DNA específicas de los genotipos de HPV y los controles d el kit.	2 uds.
Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Auto) (Ref. MAD-003925M-HS-48)	Reagent A (Ref. MAD-003930MA-HS24-48)	Hybridization solution	1 ud.
	Reagent B (Ref. MAD-003930MB-HS24-48)	Blocking solution	1 ud.
	Reagent C (Ref. MAD-003930MC-HS24-48)	Streptavidin-Alkaline Phosphatase	1 ud.
	Reagent D (Ref. MAD-003930MD-HS24-48)	Washing Buffer	1 ud.
	Reagent E (Ref. MAD-003930ME-HS48)	Reagent E	1 ud.

Tabla 9. Formatos y presentaciones del HPV Direct Flow Chip kit (Auto Bulk Lyo).

4 MATERIAL Y EQUIPAMIENTO ADICIONAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO

4.1 MATERIAL ADICIONAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO

A. Reactivos y materiales comunes para todos los formatos:

- Guantes desechables.
- Puntas de pipeta con filtro libres de DNasa/RNasa.
- Tiras de tubos/placas para PCR.
- En el caso de que se usen muestras directas de parafina, utilizar el kit Paraffin Tissue Processing Kit, Ref: MAD-003952M.
- En los casos en que se requiera la extracción del DNA de la muestra será necesario el uso de un kit adecuado. Se han validado los siguientes:

Equipos y kits de extracción de DNA validados con HPV Direct Flow Chip Kit	
Equipos de extracción	Kit de extracción
MagNA Pure Compact Instrument. (Roche Diagnostics)	MagNa Pure (Roche)
Maxwell® 16 (Promega)	Maxwell® 16 FFPE Tissue LEV DNA Purification Kit (Promega)
Molecular Automated Integral Solution (MAIS)	Vitro RNA/DNA Pathogen Extraction Kit (MAD-003955M)
Victoria V-96	Vitro RNA/DNA Pathogen Extraction Kit (MAD-003955M)
Robot Nextractor NX-48S	FFPE DNA Kit Viral DNA/RNA/NA Kit Urine/Swab DNA Kit RNA/DNA Pathogen Extraction Kit (Robot Nextractor NX-48S) MAD-003955M-EX

Tabla 10. Equipos y kits de extracción de ácidos nucleicos.

B. Específico para formatos compatibles con plataformas automáticas HS12a, HS24 y HS24a:

- Washing Reagent (ref. MAD-003930WSH).

C. Específico para plataformas con termociclador HS12a y HS24a:

- Placas de PCR MAD-003900-PCRP.
- Tapones (ref. NST-406012)

4.2 EQUIPAMIENTO:

A. Equipamiento común para todos los formatos:

- Cabina de flujo laminar
- Microcentrífuga para tiras de tubos de PCR o placas de 96 pocillos.
- Micropipetas automáticas: P1000, P200, P20 y P2.
- En los casos en que se requiera la extracción del DNA de la muestra será necesario el uso de un dispositivo adecuado. Los equipos de extracción automática de ácidos nucleicos que se han validado pueden verse en la Tabla 10.

- Software *hybriSoft*.

B. Equipamiento específico para formatos compatibles con las plataformas HS12 y HS24:

- Termociclador. Se han validado los siguientes:

Termocicladores validados con HPV Direct Flow Chip Kit	
Applied Biosystems™ Veriti™ 96-Well Thermal Cycler	MJ Mini Personal Thermal Cycler (Bio Rad)
Mastercycler® Nexus (Eppendorf)	2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems)
T Professional ThermoCycler (Biometra)	SimpliAmp Thermal Cycler (ThermoFischer)
GeneAmp PCR System 7900 (Applied Biosystems)	LifeECO Thermal Cycler (Bioer Technology)

Tabla 11. Termocicladores validados con HPV Direct Flow Chip Kit.

- Bloque térmico para calentar tubos de PCR (puede ser sustituido por un termociclador).
- Placa de frío (2-8 °C).
- Baño termostatzado/estufa (solo para HS12).

5 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

5.1 Condiciones de almacenamiento

Componente	Formato del kit	Tº Almacenamiento
Mix de PCR	HPV Flow Chip kit (monotest): MAD-003930M-MIX	Se almacena de 2-8°C
	HPV PCR mix "Bulk Wet": MAD-003930-MIX-W	Se almacena a -10 a -30°C
	HPV PCR mix "Bulk Lyo": MAD-003930-MIX-L	Se almacena de 2-8°C
Solución de reconstitución MAD-LYO-SOL	Sólo en formatos "Bulk Lyo"	Se almacena de 2-8°C
Agua libre de RNAasa y DNAasa (MAD-DDW)	Todos los formatos, es un componente común	Se almacena de 2-8°C
HPV Chips	Todos los formatos, es un componente común	Se almacena de 2-8°C
Soluciones de hibridación	Todos los formatos	Se almacenan de 2-8°C

Tabla 12. Condiciones de almacenamiento de los componentes de HPV Direct Flow Chip Kit.

5.2 Estabilidad de los componentes en uso:

Componente:	Formato del kit	Condiciones de uso
Mix de PCR	HPV Flow Chip kit (PCR Mix): MAD-003930M-MIX Monotest Lyo	Una vez abierto el envase que contiene la tira de tubos con la mezcla de PCR liofilizada, conservar los tubos sobrantes hasta un máximo de 21 días a 2-8 °C en el embalaje original.
	HPV PCR mix "Bulk Wet": MAD-003930-MIX-W	La mix de PCR soporta hasta 6 ciclos de congelación/descongelación.
	HPV PCR mix "Bulk Lyo": MAD-003930-MIX-L	La mix de PCR soporta hasta 6 ciclos de congelación/descongelación una vez resuspendida.
HPV Chips	HPV Chips: MAD-003930M-CH-HS-24	Una vez abierto el envase que contiene los chips, mantener esponja y desecante en su interior hasta fin de uso para asegurar una correcta conservación de las membranas.

Componente:	Formato del kit	Condiciones de uso
Reactivos de hibridación	Reactivos de hibridación	Mantener a la temperatura de 2-8°C mientras no se esté usando.

Tabla 13. Condiciones de uso de los componentes de HPV Direct Flow Chip Kit.

5.3 Estabilidad de los componentes en transporte:

Todos los formatos de HPV Direct Flow Chip Kit se transportan a una temperatura de 2-8°C.

6 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- **Lea las instrucciones de uso antes de utilizar este producto.**
- **Las precauciones de seguridad y eliminación de residuos vienen descritas en la Ficha de Datos de Seguridad de este producto.** Este producto está destinado únicamente para uso profesional en un laboratorio, y no como fármaco, para uso doméstico ni otros fines. La versión actual de la Ficha de Datos de Seguridad de este producto puede ser descargada en la página web www.vitro.bio o solicitada en regulatory@vitro.bio.
- **HPV Direct Flow Chip kit** no requiere la extracción previa de ADN de las muestras, aunque puede realizarse si se prefiere. Se puede proceder directamente a la amplificación por PCR a partir de suspensiones celulares, células fijadas o secciones de tejido parafinado. En caso de utilizar un kit de extracción de ácidos nucleicos, es responsabilidad del cliente incluir los controles necesarios para verificar que el sistema funciona adecuadamente.
- **Consideraciones generales para evitar la contaminación con producto de PCR:**
La mayor fuente de contaminación suele ser el propio producto de PCR amplificado, por lo cual es recomendable llevar a cabo la manipulación de los productos amplificados en una zona diferente a donde se realiza la reacción de PCR. Es recomendable trabajar en áreas diferenciadas de pre- y post-PCR en donde se realice la manipulación del ADN problema y preparación de tubos de PCR (pre-PCR) y la manipulación e hibridación de los productos amplificados (post-PCR). Estas áreas deben estar separadas físicamente y debe emplearse distinto material de laboratorio (batas, pipetas, puntas, etc) para evitar la contaminación de las muestras con el ADN amplificado, lo que podría conducir a falsos diagnósticos positivos. El flujo de trabajo debe ir siempre en una única dirección, desde la zona de pre-PCR hasta la zona de post-PCR y nunca en dirección opuesta. Se debe evitar el flujo de material y personal desde la zona post-PCR a la zona pre-PCR. Además, a fin de evitar la contaminación con productos de PCR previos, se incluye en el kit la enzima Cod-UNG, que degrada productos de PCR que contengan dUTP.
Se recomienda incluir controles negativos de amplificación de todos los reactivos utilizados en el proceso, desde la extracción hasta la amplificación, con excepción de la muestra, con objeto de detectar y controlar cualquier posible contaminación de los reactivos con muestras problema o con productos amplificados. La hibridación en membrana de este control debe ser negativa, marcándose solo el control de hibridación y el control exógeno de amplificación. De este modo se comprueba que no existe contaminación de ADN de pacientes y/o de ADN amplificado en la zona de pre-PCR.
- **Eliminación de residuos:** La manipulación de residuos generada por el uso de los productos comercializados por Vitro, S.A., debe realizarse de acuerdo con la legislación vigente en el país en el que estos productos sean usados. Como referencia, la siguiente tabla indica la clasificación de los residuos generados por este kit de acuerdo con la legislación europea, específicamente de acuerdo con la *decisión de la comisión europea del 18*

de diciembre de 2014 enmienda de la decisión 2000/532/CE sobre la lista de residuos conforme a la directiva 2008/98/CE del parlamento europeo y del consejo:

RESIDUOS POTENCIALES GENERADOS TRAS EL USO DE ESTE PRODUCTO	CÓDIGO ELW*	TIPO DE RESIDUO DE ACUERDO A ELW
1. Basura/Residuos generados a partir de los reactivos de hibridación 2. Desecho de Residuos Líquidos ("Residuos" en los equipos manuales y automáticos)	161001	"Residuos acuosos líquidos que contienen sustancias peligrosas" después de añadir un 10% del volumen total de un agente desinfectante. Si la desinfección no es llevada a cabo, estos residuos deben considerarse como "residuos cuyo almacenamiento y eliminación es sometida a requisitos especiales a fin de prevenir infección"
3. HPV Chips 4. Fungibles (tubos, puntas, papel de aluminio, etc.) 5. Cualquier elemento que haya estado en contacto con ADN	180103	"Residuos cuyo almacenamiento y eliminación es sometida a requisitos especiales a fin de prevenir infección"
6. Contenedor para reactivos usados clasificados como peligrosos (de acuerdo a la Ficha de Datos de Seguridad)	150110	"Envases que contienen residuos o contaminados por sustancias peligrosas"

Tabla 14. Tabla 9: Clasificación de residuos generados por el kit HPV Direct Flow Chip de acuerdo con la legislación europea. *ELW: Acrónimo del inglés European Legislation of Waste.

Esta clasificación se incluye como pauta general de actuación, estando bajo la responsabilidad final del usuario el cumplimiento de todas las regulaciones locales, regionales y nacionales sobre la eliminación de este tipo de materiales.

7 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

HPV Direct Flow CHIP Kit está optimizado para el uso directo de muestras clínicas tales como torundas cervicales y anales, citologías en medio líquido, muestras cérvico-vaginales obtenidas con el kit de auto toma Cervico-Vaginal Self Collection Kit, citologías en medio de transporte de Digene (STM) y secciones de tejido parafinado, sin previa extracción de ADN. El sistema también se ha validado con ADN purificado a partir de muestras clínicas usando los métodos de extracción indicados en la Tabla 10.



El sistema no se ha validado con otros métodos de extracción de ADN, por lo tanto, el uso de cualquier otro método debe de ser previamente verificado.

7.1 Recomendaciones de almacenamiento de las muestras:

Las recomendaciones de almacenamiento para los distintos tipos de muestras son las siguientes:

- Las citologías líquidas se introducirán en un recipiente estéril con un líquido conservante y se mantendrán a temperatura ambiente (15 a 25°C) hasta su procesamiento. Las muestras son estables hasta 10 días a la temperatura indicada.
- Los hisopos se introducirán en un tubo estéril y se mantendrán a temperatura ambiente (15 a 25°C) hasta su procesamiento. Las muestras son estables hasta 10 días a la temperatura indicada.
- Las muestras cérvico - vaginales obtenidas con el kit de autotoma se mantendrán a temperatura ambiente (15 a 25°C) hasta su procesamiento. Las muestras son estables hasta 10 días a la temperatura indicada.

- Las citologías en medio de transporte de digene® (digene® Specimen Transport Medium) se introducirán en un tubo de transporte de polipropileno que contenga 1 mL de medio de transporte de muestras. El tubo debe taparse bien con un tapón de rosca, etiquetarse, transportarse y conservarse a -20°C hasta su posterior análisis. El tubo que contiene la muestra debe invertirse varias veces para asegurarse de que ésta entre perfectamente en contacto con la solución. Las muestras se pueden enviar entre 2 y 30°C por transporte de un día para otro al laboratorio de análisis y volverse a congelar a -10°C/-30°C a la recepción. La muestra es estable durante tres años. La integridad del ADN no variará con tres ciclos de congelación/descongelación como máximo.
- Las secciones de tejido parafinado se mantendrán a temperatura ambiente (15 a 25°C) hasta su procesamiento.
- El producto de amplificación obtenido con el kit "Vitro HPV Screening Kit" (Vitro, S.A. Ref. MAD-003949M) se mantendrá almacenado a -10°C/-30°C hasta 6 meses.



WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.060



WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



Protocolos de preparación de muestras para PCR directa:

TORUNDAS CERVICALES Y ANALES				
Paso	Descripción breve procedimiento	Utilidad	Importancia	Consecuencia de no hacerlo correctamente
1º	<p>Agitar la torunda en 400 µl agua bidestilada libre de DNasa/RNasa dentro de un tubo de 1.5-2 ml.</p> <p>⚠ Usar solamente agua bidestilada libre de DNasa/RNasa para recoger las células y añadir al tubo de PCR</p>	<p>Recogida del material de partida.</p> <p>Evitar la inhibición de la PCR.</p>	Muy alta	Material insuficiente, resultado "blanco".
2º	<p>- Mezclar muestra con vórtex a velocidad baja-media.</p> <p>- Preparar la PCR:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Formatos monotest liofilizado: Tomar 30 µl de la suspensión homogénea como ADN molde para la reacción de PCR. • Formatos Bulk Wet y Bulk Lyo: Tomar 8µl de la suspensión homogénea como ADN molde para la reacción de PCR <p>⚠ Mezclar bien la suspensión celular antes de añadirla al tubo de PCR</p>	<p>- Conseguir muestra celular homogénea.</p> <p>- Evitar grumos celulares.</p>	Muy alta	<p>El uso de otro tampón como PBS para recolectar las células puede provocar la inhibición de la PCR.</p> <p>Células sedimentadas:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Si aspira sólo sobrenadante -> Material insuficiente, resultado "blanco" - Si aspira del pellet -> grumo o exceso de material -> Posible inhibición PCR, resultado "blanco".
3º	<p>Una vez añadidas las muestras a los tubos de PCR, amplificar inmediatamente.</p>	<p>Evitar la exposición de las polimerasas a las proteasas.</p>	Muy alta	<p>Las células se comienzan a lisar y liberan proteasas que pueden destruir la polimerasa, resultado "blanco".</p>

Tabla 15. Protocolo de preparación de muestra para PCR directa a partir de torundas cervicales y anales.



WM ARGENTINA S.A.
 MARIA PAULA MARCHIONE
 DIRECTORA TECNICA
 BIOQUIMICA
 M.N. 12496 M.P. 8229



WM ARGENTINA S.A.
 ANTONIO SANTIAGO ANTognOLI
 DIRECTOR - APODERADO
 D.N.I. 12.798.090



Vitro, S.A.
 Calle Luis Fuentes Bejarano, 60, Edificio Nudo Norte, Local 3, 41020 Sevilla (Spain).
 Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio



CITOLOGÍAS EN MEDIO LÍQUIDO / MUESTRAS CÉRVICO-VAGINALES OBTENIDAS CON EL KIT DE AUTO TOMA CERVICO-VAGINAL SELF COLLECTION KIT (Ref. MAD-WVC, Vitro S.A.)




Paso	Descripción breve procedimiento	Utilidad	Importancia	Consecuencia de no hacerlo correctamente
1º	Tomar 400 µl de muestra homogeneizada mediante vórtex, y depositar en un tubo de 1,5-2 ml.	Recogida del material de partida.	Muy alta	Material insuficiente, resultado "blanco".
2º	Centrifugar 1 min a 2000 rpm y retirar el sobrenadante.	Concentración del material de partida	Muy alta	Material insuficiente, muy diluido, resultado "blanco".
3º	Lavar pellet con 400 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa . Centrifugar 1 min a 2000 rpm y retirar el sobrenadante.	Eliminar agentes inhibidores de la PCR.	Muy alta	Inhibición de la PCR, resultado "blanco".
4º	Resuspender el pellet resultante en 300 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa para obtener una suspensión homogénea de células.	Obtener una muestra homogénea en medio líquido.	Alta	Exceso de material. Posible inhibición PCR, resultado "blanco".
	 Usar solamente agua bidestilada libre de DNasa/RNasa para recoger las células y añadir al tubo de PCR	Evitar la inhibición de la PCR.	Muy alta	El uso de otro tampón como PBS para recolectar las células puede provocar la inhibición de la PCR.
5º	Mezclar muestra mediante vórtex. Preparar la PCR: <ul style="list-style-type: none"> • Formatos monoteest liofilizado: Tomar 30 µl de la suspensión homogénea como ADN molde para la reacción de PCR. • Formatos Bulk Wet y Bulk Lyo: Tomar 8µl de la suspensión homogénea como ADN molde para la reacción de PCR  Mezclar bien la suspensión celular antes de añadirla al tubo de PCR	- Conseguir muestra celular homogénea. - Evitar grumos celulares.	Muy alta	Células sedimentadas: - Si aspira sólo sobrenadante -> Material insuficiente, resultado "blanco" - Si aspira del pellet -> grumo o exceso de material -> Posible inhibición PCR, resultado "blanco".
6º	 Una vez añadidas las muestras a los tubos de PCR amplificar inmediatamente.	Evitar la exposición de las polimerasas a las proteasas.	Muy alta	Las células se comienzan a lisar y liberan proteasas que pueden destruir la polimerasa, resultado "blanco".

Tabla 16. Protocolo de preparación de muestra para PCR directa a partir de citologías en medio líquido o muestras cérvico - vaginales obtenidas con el kit de auto toma Cervico-Vaginal Self Collection Kit.



Si tras seguir este protocolo "Citologías en medio líquido / Muestras cérvico-vaginales obtenidas con el kit de Auto toma Cervico-Vaginal Self Collection Kit se observa **suciedad en la membrana**, se recomienda seguir el protocolo alternativo que se indica a continuación:



Paso	Descripción breve procedimiento	Utilidad	Importancia	Consecuencia de no hacerlo correctamente
1º	Tomar 50 µl del fondo de la muestra SIN homogeneizar con vórtex, y depositar en un tubo de 1.5-2 ml.	Recogida del material de partida.	Muy alta	Material insuficiente, resultado "blanco".
2º	Añadir 350 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa . Centrifugar 2 min a 2000 rpm y retirar el sobrenadante.	Eliminar agentes inhibidores de la PCR.	Muy alta	Inhibición de la PCR, resultado "blanco".
3º	Resuspender el pellet resultante en 400 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa para obtener una suspensión homogénea de células.	Obtener una muestra homogénea en medio líquido.	Alta	Exceso de material. Posible inhibición PCR, resultado "blanco".
	 Usar solamente agua bidestilada libre de DNasa/RNasa para recoger las células y añadir al tubo de PCR	Evitar la inhibición de la PCR.	Muy alta	El uso de otro tampón como PBS para recolectar las células puede provocar la inhibición de la PCR.
4º	Mezclar la muestra mediante vórtex. Preparar la PCR: <ul style="list-style-type: none"> • Formatos monotest liofilizado: Tomar 30 µl de la suspensión homogénea como ADN molde para la reacción de PCR. • Formatos Bulk Wet y Bulk Lyo: Tomar 8µl de la suspensión homogénea como ADN molde para la reacción de PCR 	- Conseguir muestra celular homogénea. - Evitar grumos celulares.	Muy alta	Células sedimentadas: - Si aspira sólo sobrenadante -> Material insuficiente, resultado "blanco" - Si aspira del pellet -> grumo o exceso de material -> Posible inhibición PCR, resultado "blanco".
	 Mezclar bien la suspensión celular antes de añadirla al tubo de PCR			
5º	Una vez añadidas las muestras a los tubos de PCR amplificar inmediatamente.	Evitar la exposición de las polimerasas a las proteasas.	Muy alta	Las células se comienzan a lisar y liberan proteasas que pueden destruir la polimerasa, resultado "blanco".

Tabla 17. Protocolo alternativo de preparación de muestra para PCR directa a partir de citologías en medio líquido o muestras cérvico - vaginales obtenidas con el kit de auto toma Cervico-Vaginal Self Collection Kit.

El sistema se ha validado para PCR directa (sin extracción previa de ADN) con los siguientes medios de transporte de citología líquida: *Thinprep (Hologic), Surepath (Becton Dickinson), Novaprep (Novacyt), CellPrep (Biodyne), CY-PRER™ Pap Test (FIORD Diagnostics) y HURO PATH® Cell-Preserve Solution (CelttraZone)*



VITRO, S.A.
Calle Luis Fuentes Belarano, 60, Edificio Nudo Norte, Local 3, 41020 Sevilla (Spain).
Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio



Rev: 2024-03-05

15/36

WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO MANTOGNOLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.060

WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229

CITOLOGÍAS EN MEDIO DE TRANSPORTE DE DIGENE (STM)




Paso	Descripción Breve procedimiento	Utilidad	Importancia	Consecuencia de no hacerlo correctamente
1º	Tomar 500-1000 µl de suspensión celular y poner en un tubo de 1.5-2 ml.	Recogida del material de partida.	Muy alta	Material insuficiente, resultado "blanco".
2º	Centrifugar 1 min a 2000 rpm y retirar el sobrenadante.	Concentración del material de partida.	Muy alta	Material insuficiente, muy diluido, resultado "blanco".
3º	Lavar pellet con 400 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa. Centrifugar 1 min a 2000 rpm y retirar el sobrenadante.  Usar solamente agua bidestilada libre de DNasa/RNasa para recoger las células y añadir al tubo de PCR	Eliminar agentes inhibidores de la PCR. Evitar la inhibición de la PCR.	Muy alta	Inhibición de la PCR, resultado "blanco". El uso de otro tampón como PBS para recolectar las células puede provocar la inhibición de la PCR.
4º	Resuspender el botón celular resultante en 300 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa para obtener una suspensión homogénea de células.	Obtener una muestra homogénea en medio líquido.	Alta	Exceso de material. Posible inhibición PCR, resultado "blanco".
5º	Mezclar muestra mediante vórtex. Preparar la PCR: <ul style="list-style-type: none"> • Formato monotest liofilizado: Tomar 30 µl de la suspensión homogénea como ADN molde para la reacción de PCR. • Formato Bulk Wet y Bulk Lyo: Tomar 8µl de la suspensión homogénea como ADN molde para la reacción de PCR 	- Conseguir muestra celular homogénea. - Evitar grumos celulares.	Alta	Células sedimentadas: - Si aspira sólo sobrenadante -> Material insuficiente, resultado "blanco" - Si aspira del pellet -> grumo o exceso de material -> Posible inhibición PCR, resultado "blanco".
6º	 Mezclar bien la suspensión celular antes de añadirla al tubo de PCR	- Conseguir muestra celular homogénea. - Evitar grumos celulares.	Muy alta	Las células se comienzan a lisar y liberan proteasas que pueden destruir la polimerasa, resultado "blanco".
		Una vez añadidas las muestras a los tubos de PCR amplificar inmediatamente.	Evitar la exposición de las polimerasas a las proteasas.	

Tabla 18. Protocolo de preparación de muestra para PCR directa a partir de citologías en medio de transporte de Digene.



SECCIONES DE TEJIDO PARAFINADO

Paso	Descripción breve procedimiento	Utilidad	Importancia	Consecuencia de no hacerlo correctamente
1º	Tomar 1-3 secciones de tejido parafinado (dependiendo del tamaño de la sección tisular) de 10 µm grosor. Colocar en tubo Eppendorf de 1,5 ml. <i>Nota: es conveniente retirar el máximo posible de parafina de los bordes de las secciones de tejido.</i>	Recogida del material de partida.	Muy alta	Material insuficiente, resultado "blanco".
2º	Añadir 400 µl de aceite mineral (Ref Kit: MAD-003952M). Calentar a 95°C durante 2 min. Centrifugar 1 min a 2000 rpm. Eliminar restos de aceite mineral.	Eliminar parafina.	Muy alta	Restos de parafina que interfieren con la lisis del tejido posterior (3º paso).
3º	Añadir al pellet: - 60 µl de Tampón de extracción. (Ref Kit: MAD-003952M). - 1.5 µl de DNA Release (Ref Kit: MAD-003952M). <i>Nota: para secciones de tejido >1 cm2: - Incrementar volumen de Tampón de extracción y DNA Release proporcionalmente. - Asegurar que el tejido queda completamente sumergido.</i>	Garantizar correcta actuación de los agentes de lisis.	Muy alta	Material insuficiente por lisis insuficiente del tejido, resultado "blanco".
4º	Incubar en dos pasos: (a) 30 min a 60°C (b) 10 min a 98°C	a. Digestión enzimática mediante proteasas. b. Inactivación de proteasas.	Muy alta	Sin paso a. -> lisis insuficiente de las células y material tisular que impiden que el ADN quede en solución, resultado "blanco". Sin paso b. -> alto riesgo de que degraden la ADN polimerasa de la PCR, resultado "blanco".
	 Si tras la incubación el tejido no ha sido completamente digerido, se recomienda añadir de nuevo el volumen proporcional de Tampón de extracción y DNA Release. Repetir la incubación durante otros 30 min a 60 °C y 10 min a 98 °C. Comprobar que la sección utilizada para la determinación de HPV contiene lesión. Para ello se recomienda realizar H&E en la primera y última sección y usar las secciones intermedias para extraer ADN. Si se comprueba que las dos secciones primera y última tienen lesión, esto indica que las secciones centrales que se van a usar para PCR-HPV son válidas. Si no hay lesión en las dos secciones extremas hay riesgo de que las secciones usadas para PCR hayan perdido la lesión.	Fomentar la lisis celular y tisular para liberar el ADN.	Alta	Lisis insuficiente de las células y material tisular que impiden que el ADN quede en solución, resultado "blanco".

SECCIONES DE TEJIDO PARAFINADO


Paso	Descripción breve procedimiento	Utilidad	Importancia	Consecuencia de no hacerlo correctamente
59	<p>El protocolo de PCR directa no ha sido ensayado para otro tipo de muestras clínicas de partida (extensiones citológicas o secciones de tejido teñidas) sobre las que también es posible realizar el test de HPV, por lo que se recomienda seguir un procedimiento de purificación de ADN sobre dichas muestras:</p> <p>- Centrifugar 1 min a 2000 rpm -> decantar restos tisulares. - Preparar la PCR:</p> <p>Monotest liofilado: Añadir por tubo de reacción 27 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa y 3 µl de la suspensión celular homogénea como ADN molde para PCR, evitando tomar restos de tejido del fondo del tubo ("debris"),</p> <p>Bulk wet y bulk lio: Añadir por tubo de reacción 5 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa y 3 µl de la suspensión celular homogénea como ADN molde para PCR, evitando tomar restos de tejido del fondo del tubo ("debris").</p> <p><i>Nota: pueden quedar restos de aceite mineral en la parte superior del sobrenadante (Phase 1), estos restos no interfieren en la PCR posterior, pero hay que asegurar que se coge sobrenadante acuoso (Phase 2) que es el que contiene el ADN.</i></p> 	Muestra de partida apta para ser amplificada.	Muy alta	Posibles problemas de inhibición de PCR por aspiración de restos tisulares, o toma de aceite mineral en lugar de sobrenadante, el resultado del test sería "blanco".
69	<p>Una vez añadidas las muestras a los tubos de PCR, amplificar inmediatamente.</p>	Evitar la exposición de las polimerasas a las proteasas.	Muy alta	Las células se comienzan a lisar y lliberan proteasas que pueden destruir la polimerasa, resultado "blanco".

Tabla 19. Protocolo de preparación de muestra para PCR directa a partir de secciones de tejido parafinado.

WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229

El **procedimiento** de análisis a utilizar cuando se parte del producto amplificado obtenido con el kit **Vitro HPV Screening kit (Vitro, S.A. Ref. MAD-003949M)** se describe en el apartado 9.2.

8 PREPARACIÓN DE LA PCR

La preparación de la mix de PCR variaría según el formato del kit utilizado:

8.1 Reacción de PCR para formato de mix “monotest lyo”

La mix en formato monotest lyo la contienen las siguientes presentaciones del Kit:

Presentaciones	Referencias	Nº Test	Plataformas
HPV Direct-Flow Chip Kit (Manual)	MAD-003930MU-HS12-24	24	HS12
HPV Direct-Flow Chip Kit (Auto)	MAD-003930MU-HS24-24	24	HS24, HS12A y HS24A
HPV Direct-Flow Chip Kit (Manual)	MAD-003930MU-HS12-48	48	HS12
HPV Direct-Flow Chip Kit (Auto)	MAD-003930MU-HS24-48	48	HS24, HS12A y HS24A

La reacción de PCR se lleva a cabo en un volumen final de 30 µl para los formatos “monotest lyo”.

Tomar un tubo que contiene la mezcla de PCR liofilizada por muestra a analizar.

- Añadir la muestra:
 - Muestra directa: Añadir 30 µl de muestra directa a excepción del siguiente caso:
 - Muestra de tejido parafinado: añadir por tubo de reacción 27 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa y 3 µl de la suspensión celular.
 - Muestra extraída (ADN purificado): añadir en primer lugar 18 µl de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa al tubo y posteriormente añadir 12 µl de ADN.
- Homogenizar la mezcla mediante pipeteo y centrifugar durante unos segundos.
- Si el número de muestras a analizar es inferior o superior a 8, se pueden separar de la tira los tubos que sean necesarios sin tener que emplear tiras completas. El resto de la tira de tubos con la mezcla de PCR liofilizada que no se vaya a usar en el momento debe ser almacenada durante un máximo de 3 semanas a 2-8°C en el embalaje original.
- En caso de realizar la PCR en el equipo HS12A o HS24A, seguir las instrucciones del equipo. En caso de realizar la PCR externamente, homogenizar la mezcla mediante pipeteo y centrifugar durante unos segundos.
 - Ver los termocicladores validados en la Tabla 11.
 - Colocar los tubos en el termociclador y programar las siguientes condiciones de amplificación:

PROGRAMA PCR		
25 °C	5 min	1 ciclo
95 °C	5 min	1 ciclo
95 °C	15 seg	5 ciclos
42 °C	15 seg	
72 °C	30 seg	
95 °C	15 seg	45 ciclos
60 °C	40 seg	

Tabla 20. Programa de PCR.

Mantener los tubos refrigerados a 2-8 °C cuando finalice la reacción no más de 72h. Si no se van a procesar las muestras en el momento, se pueden almacenar a -10 °C/-30 °C hasta 6 meses.

8.2 Procedimiento para formato HPV-Direct Flow Chip “Bulk Lyo” y “Bulk Wet”:

Las presentaciones que contienen estos formatos de mix “Bulk” son los siguientes:

Tipo de PCR mix	Presentaciones	Referencias	Plataformas
Bulk wet	HPV Direct-Flow Chip Kit (Manual Bulk Wet)	MAD-003930MW-HS12-48	HS12
	HPV Direct-Flow Chip Kit (Auto Bulk Wet)	MAD-003930MW-HS-48	HS24, HS12A y HS24A
Bulk lyo	HPV Direct-Flow Chip Kit (Manual Bulk Lyo)	MAD-003930ML-HS12-48	HS12
	HPV Direct-Flow Chip Kit (Auto Bulk Lyo)	MAD-003930ML-HS-48	HS24, HS12A y HS24A

- Tomar un tubo que contiene la mezcla de PCR. En el caso del formato liofilizado, resuspender en el tubo opaco donde está la pastilla añadiendo 660µL del componente MAD-LYO-SOL. Una vez resuspendido, si se desea realizar alícuotas automáticamente con el robot MAIS en la placa de PCR (MAD-003900-PCR), tomar todo el volumen y añadirlo al tubo vacío (MAD-003900-VA). En el caso del formato “bulk” wet no es necesario resuspender. Este formato puede ponerse directamente en el robot y alicuotarse siguiendo las instrucciones del equipo. Las alícuotas puede hacerse manualmente para ambos formatos si se desea. El volumen por pocillo de mix es de 12µL.
- Una vez realizadas las alícuotas de la mix de PCR, añadir 8 µL de muestra directa o ADN purificado en cada tubo, a excepción de la siguiente:
 - Muestra de tejido parafinado para muestra directa: añadir por tubo de reacción 5µL de agua bidestilada libre de DNasa/RNasa y 3 µL de la suspensión celular.
- En caso de realizar la PCR en el equipo HS12A o HS24A, seguir las instrucciones del equipo. En caso de realizar la PCR externamente, homogenizar la mezcla mediante pipeteo y centrifugar durante unos segundos.
 - Ver los termocicladores validados en la Tabla 11.
 - Colocar los tubos en el termociclador y programar las siguientes condiciones de amplificación:

PROGRAMA PCR		
25°C	10 min	1 ciclo
95°C	3 min	1 ciclo
95°C	30 seg	40 ciclos
55°C	45 seg	
72°C	30 seg	
72°C	5 min	1 ciclo
8°C	∞	

Tabla 21. Programa de PCR.

Mantener los tubos refrigerados a 2-8 °C cuando finalice la reacción no más de 72h. Si no se van a procesar las muestras en el momento, se pueden almacenar a -10 °C/-30 °C hasta 6 meses.

9 HIBRIDACIÓN REVERSA POR FLOW-THROUGH

Todos los reactivos son suministrados en formato “listo para uso”.

Las membranas son de un solo uso y se deben manipular con guantes.

El procedimiento a seguir dependerá del tipo de muestra y equipo hybriSpot a utilizar.

9.1 Muestra clínica directa y muestra purificada:

9.1.1 Hibridación reversa manual con HS12:

Una vez realizada la PCR siguiendo el paso anterior, todo el proceso de hibridación se realiza de forma manual en hybriSpot (HS12) siguiendo las instrucciones proporcionadas por el wizard del equipo "HPV-DNAFlow". La gestión de las muestras, la captura de las imágenes y el análisis e informe de los resultados se realizan a través del software hybriSoft.

Nota: Configurar el instrumento siguiendo las instrucciones del manual de usuario (proporcionadas con el instrumento).

Antes de comenzar el proceso de hibridación:

1. Desnaturalizar los productos de PCR calentando a **95 °C durante 10 min** en un termociclador y **enfriar rápidamente en hielo** durante al menos **2 min**.
2. Precalentar el **Reactivo A** (Reagent A) a 41 °C.
3. Situar cada **HPV Chip** en la posición indicada en la plataforma (HS12).

Protocolo de hibridación manual:

- a) Establecer la temperatura del equipo a 41 °C. Añadir **300 µl de Reactivo A (Hybridization Solution)** precalentada a 41 °C a cada Chip e incubar durante al menos **2 min a 41 °C**.
- b) Eliminar el **reactivo A (Hybridization Solution)** activando la bomba de vacío.
- c) Mezclar **30 µl** de cada muestra de PCR (previamente desnaturalizada y mantenida en hielo) con **270 µl de Reactivo A (Hybridization Solution)** (41 °C) y dispensar la mezcla sobre el **HPV Chip** correspondiente.
Nota: Cuando se trabaje con muestras procedentes de PCR directa se recomienda no tomar el contenido del fondo del tubo de PCR que contiene los restos celulares.
- d) Incubar a **41 °C durante 8 min**.
- e) Activar la bomba durante al menos 30 s para eliminar los productos de PCR.
- f) Lavar **3 veces con 300 µl con Reactivo A (Hybridization Solution)** (41 °C).
- g) Fijar la temperatura en **29 °C**.
- h) Añadir **300 µl de Reactivo B (Blocking solution)** e incubar durante 5 min.
- i) Activar la bomba para eliminar el Reactivo B.
- j) Cuando la temperatura haya alcanzado **29 °C**, añadir **300 µl de Reactivo C (Streptavidin-Alkaline Phosphatase)** a cada Chip.
- k) Incubar durante **5 min a 29 °C**.
- l) Activar la bomba para eliminar el reactivo.
- m) Fijar la temperatura en **36 °C**.
- n) Lavar las membranas **4 veces con 300 µl con Reactivo D (Washing buffer I)**.
- o) Cuando la temperatura alcance los **36 °C**, añadir **300 µl de Reactivo E (Reagent E)** a cada Chip. Incubar durante **10 min a 36 °C**.
- p) Activar la bomba para eliminar el reactivo.
- q) Lavar las membranas **2 veces con 300 µl de Reactivo F (Washing buffer II)**.
- r) Activar la bomba para eliminar el reactivo.

- s) Realizar la captura de imágenes, análisis e informe de resultados siguiendo instrucciones del manual de usuario HS12.

9.1.2 Hibridación reversa automatizada con HS24

Una vez realizada la PCR siguiendo el paso anterior, todo el proceso de hibridación se realiza de forma automática en hybriSpot 24 (HS24) siguiendo las instrucciones proporcionadas por el *wizard* del equipo "HPV Direct Flow Chip". La gestión de las muestras, la captura de las imágenes y el análisis e informe de los resultados se realizan a través del software hybriSoft.

Nota: Configurar el instrumento siguiendo las instrucciones del manual de usuario (proporcionadas con el instrumento).

Antes de comenzar el proceso de hibridación:

1. Desnaturalizar los productos de PCR calentando a **95 °C durante 10 min** en un termociclador y **enfriar rápidamente en hielo** durante al menos **2 min**.
2. Colocar los tubos de PCR, los HPV Chips y los reactivos en sus correspondientes posiciones del hybriSpot 24.
3. Seleccionar el protocolo correspondiente en el equipo (HPV Direct Flow Chip) para que comience el proceso automático.

9.1.3 Hibridación reversa automatizada con HS12A y HS24A

Los procesos de amplificación por PCR y de hibridación se realizan de forma automática en la plataforma HS12a y HS24a siguiendo las instrucciones proporcionadas por el *wizard* del equipo "HPV Direct Flow Chip".

El procesamiento de la muestra, la captura de imágenes y el análisis de los resultados se lleva a cabo mediante el software hybriSoft.

Antes de comenzar el proceso, se recomienda leer con atención el manual de usuario (incluido en el equipo HS12a y HS24a) y seguir las instrucciones para colocar las tiras de tubos, chips y reactivos de hibridación en el instrumento.

9.2 Producto de amplificación obtenido con el kit Vitro HPV Screening (Vitro, S.A. Ref. MAD-003949M)

Una vez obtenido el producto de amplificación con el kit Vitro HPV Screening kit, se procede directamente al proceso de hibridación reversa por Flow-through.

Nota: Todos los reactivos son suministrados en formato "listo para uso". Las membranas son de un solo uso y deben manipularse con guantes.

9.2.1 Hibridación reversa manual con HS12

Todo el proceso de hibridación se realiza de forma manual en hybriSpot (HS12) siguiendo las instrucciones proporcionadas por el *wizard* del equipo "HPV_RT". La gestión de las muestras, la captura de las imágenes y el análisis e informe de los resultados se realizan a través del software hybriSoft.

Nota: Configurar el instrumento siguiendo las instrucciones del manual de usuario (proporcionadas con el instrumento).

Antes de comenzar el proceso de hibridación:

Vitro, S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano, 60, Edificio Nudo Norte, Local 3, 41020 Sevilla (Spain).
Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio


WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTIGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.068


WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



1. **Desnaturalizar** todo el producto de amplificación obtenido con el kit Vitro HPV Screening (Vitro, S.A. ref. MAD-003949M) calentando a **95 °C durante 10 min** en un termociclador y **enfriar rápidamente en hielo** durante al menos **2 min**.
2. Precalentar el **Reactivo A** (Reagent A) a 41 °C.
3. Situar cada **HPV Chip** en la posición indicada en la plataforma (HS12).

Protocolo de hibridación manual con HS12:

- a) Establecer la temperatura del equipo a **60 °C**. Añadir **300 µl** de **Reactivo A** (Hybridization Solution) precalentado a 41 °C a cada Chip e incubar durante al menos **2 min** a **60 °C**.
- b) Eliminar el **reactivo A** (Hybridization Solution) activando la bomba de vacío.
- c) Mezclar el **producto de amplificación obtenido con el kit Vitro HPV Screening (Vitro, S.A. ref. MAD-003949M)** (previamente desnaturalizada y mantenida en hielo) con **270 µl** de **Reactivo A** (Hybridization Solution) precalentado a 41 °C y dispensar la mezcla sobre el **HPV Chip** correspondiente.
- d) Incubar a **60 °C** durante **1 min**.
- e) Establecer la temperatura del equipo a 41°C y cuando alcance dicha temperatura, incubar la muestra durante 6 minutos.
- f) Activar la bomba durante al menos 30 s para eliminar los productos de PCR.
- g) Establecer la temperatura del equipo a 29°C y Lavar **3 veces** con **Reactivo A** (Hybridization Solution) precalentado a 41 °C **mientras el equipo baja la temperatura hasta alcanzar los 29°C**.
- h) Añadir **300 µl** de **Reactivo B (Blocking solution)** e incubar durante 5 min.
- i) Activar la bomba para eliminar el Reactivo B.
- j) Añadir **300 µl** de **Reactivo C (Streptavidin-Alkaline Phosphatase)** a cada Chip.
- k) Incubar durante **5 min** a **29°C**.
- l) Activar la bomba para eliminar el reactivo.
- m) Establecer la temperatura del equipo a **36°C** y lavar las membranas **4 veces** con **300 µl** con **Reactivo D (Washing buffer I)** mientras el equipo alcanza la temperatura de 36°C.
- n) Cuando la temperatura alcance los **36 °C**, añadir **300 µl** de **Reactivo E (Reagent E)** a cada Chip.
- o) Incubar durante **10 min** a **36 °C**.
- p) Activar la bomba para eliminar el reactivo.
- q) Lavar las membranas con **2 veces** con **300 µl** de **Reactivo F (Washing buffer II)**.
- r) Activar la bomba para eliminar el reactivo.
- s) Realizar la captura de imágenes, análisis e informe de resultados siguiendo instrucciones del manual de usuario HS12.

9.2.2 Hibridación reversa automatizada en HS24.

Todo el proceso de hibridación se realiza de forma automática en hybriSpot 24 (HS24) siguiendo las instrucciones del wizard del equipo "HPV Direct Flow Chip (RT Genotyping)". La gestión de las muestras, la captura de las imágenes y el análisis e informe de los resultados se realizan a través del software hybriSoft.

Nota: Configurar el instrumento siguiendo las instrucciones del manual de usuario (proporcionadas con el instrumento).



Vitro, S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano, 60, Edificio Nudo Norte, Local 3, 41020 Sevilla (Spain).
Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio



WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12.796.06P

Tener en cuenta que el número de muestras máximo a hibridar en el equipo HS24 con el producto de “Vitro HPV Screening kit” es de 12 muestras.

Antes de comenzar el proceso de hibridación:

1. Desnaturalizar los 20 µl del producto de amplificación obtenido con el kit Vitro HPV Screening (Vitro, S.A. ref. MAD-003949M) calentando a 95 °C durante 10 min en un termociclador y enfriar rápidamente en hielo durante al menos 2 min.
2. Colocar los tubos de PCR, los HPV Chips y los reactivos en sus correspondientes posiciones del hybriSpot 24.
3. Seleccionar el protocolo correspondiente (HPV Direct Flow Chip (RT Genotyping)) en el equipo para que comience el proceso automático de hibridación.

9.2.3 PROCEDIMIENTO Hibridación reversa automatizada en HS12a y HS24a.

Los procesos de amplificación por PCR y de hibridación se realizan de forma automática en la plataforma HS12a y HS24a siguiendo las instrucciones proporcionadas por el wizard del equipo “HPV Direct Flow Chip (RT-Genotyping)”.

El procesamiento de la muestra, la captura de imágenes y el análisis de los resultados se lleva a cabo mediante el software hybriSoft.

Antes de comenzar el proceso, se recomienda leer con atención el manual de usuario (incluido en el equipo HS12a y HS24a) y seguir las instrucciones para colocar las tiras de tubos, chips y reactivos de hibridación en el instrumento.

10 PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

HPV Flow Chip kit contiene varios controles necesarios para evaluar la calidad de los resultados.

Sonda	Control
B	Control de hibridación
C	Control de amplificación endógeno

Tabla 22. Sondas control incluidas en HPV Flow Chip.

Control de hibridación (B): Tras el revelado de las membranas debe aparecer una señal intensa en las cinco posiciones de control de hibridación (B) que sirve como control de calidad. Esta señal indica que los reactivos de hibridación y revelado han funcionado correctamente. Si no aparece señal indicará que se ha producido un error durante el proceso de hibridación o que algún reactivo no se ha usado correctamente. Además, esta señal permite que el software pueda orientar correctamente el panel de sondas para su posterior análisis.

Control de amplificación endógeno (C): Es una sonda diseñada para la detección del gen de la β-globina humana contenido en la muestra problema y es co-amplificada durante la PCR. Todas las muestras donde el ADN problema se haya amplificado correctamente tendrán una señal positiva en el Control de amplificación endógeno (C). Esta señal es indicativa de la calidad/cantidad del ADN empleado en la amplificación. Una señal

positiva indica que la amplificación ha funcionado correctamente y que la calidad y cantidad del ADN de partida han sido óptimas. La ausencia de señal para este control nos indica fallos durante la amplificación, baja calidad/cantidad del ADN utilizado en la amplificación o ausencia de ADN humano en la muestra. Este último caso es posible cuando la cantidad de células humanas presentes en la muestra problema esté por debajo del límite de detección. Si además no se detectan señales positivas para ningún genotipo de HPV, el software hybriSoft incluirá el siguiente mensaje en el informe: "BLANCO. Material inadecuado. Material insuficiente. PCR inhibida".

Cuando la muestra es positiva para cualquiera de los HPV's incluidos en el kit, pero no hay señal para el control de amplificación endógeno, el software hybriSoft incluirá el siguiente mensaje en el informe: "Material insuficiente". El usuario debe de verificar el proceso y la calidad de las muestras antes de validar los resultados.

El usuario es responsable de determinar los procedimientos de control de calidad apropiados para su laboratorio.

11 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Las siguientes tablas indican las posiciones de las sondas en el Chip y la interpretación de los resultados.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	B	33	58	42	71	16	52	B	
B	B	35	59	43	72	18	53	6	69
C	C	39	66	44/55		26	56	11	70
D	U	45	68	54	84	31	58	40	71
E	16	51	73	61	B	33	59	44/55	72
F	18	52	82	62/81	C	35	66	54	
G	26	53	6	67	U	39	68	61	84
H	31	56	11	69	42	45	73	62/81	
I		B	40	70	43	51	82	67	

Tabla 23. Posición de las sondas incluidas en HPV Direct Flow Chip.

"B": Control de hibridación

"C": Control de amplificación endógeno (gen de β -globina humano)

"U": Sonda Universal HPV

"X": Sondas específicas para cada genotipo de HPV

Todas las sondas están duplicadas para garantizar la fiabilidad en el análisis automático de los resultados. El control de hibridación (B) está repetido en 5 posiciones y permite que el software pueda orientar correctamente el panel de sondas para su posterior análisis.

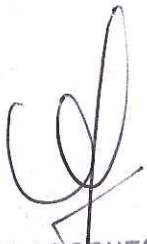
Resultados esperados	Sonda/posiciones (columna-fila)			
	Sonda genotipo HPV	B (Control de hibridación)	C (Control endógeno de amplificación)	U* (Sonda universal HPV)
HPV 16	1E-6A	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 18	1F-6B	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 26	1G-6C	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 31	1H-6D	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 33	2A-6E	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 35	2B-6F	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV39	2C-6G	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 45	2D-6H	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 51	2E-6I	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 52	2F-7A	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 53	2G-7B	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 56	2H-7C	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 58	3A-7D	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 59	3B-7E	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 66	3C-7F	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 68	3D-7G	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 73	3E-7H	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 82	3F-7I	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 6	3G-8B	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 11	3H-8C	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 40	3I-8D	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 42	4A-5H	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 43	4B-5I	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 44/55	4C-8E	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 54	4D-8F	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 61	4E-8G	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 62/81	4F-8H	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 67	4G-8I	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 69	4H-9B	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 70	4I-9C	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 71	5A-9D	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 72	5B-9E	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV 84	5D-9G	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	-- / 1D-5G
HPV POSITIVO GENOTIPO NO DETERMINADO	--	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	1D-5G
RESULTADO NEGATIVO	--	1A-1B-2I-5E-8A	1C-5F	--
BLANCO. Material inadecuado o insuficiente. PCR inhibida	--	1A-1B-2I-5E-8A	--	--
Error de hibridación	--	--	--	--

Tabla 24. Posición de las sondas incluidas en HPV Direct Flow Chip e interpretación de resultados.

*La sonda universal para HPV (U), incluye un "pool" de sondas diseñadas dentro de la región L1 del virus. Su secuencia es compartida por todos los genotipos del panel y por otros genotipos de mucosa no incluidos en este kit. Si bien hay que tener en cuenta, que la sensibilidad para cada genotipo con esta sonda es diferente de la sensibilidad con cada una de las sondas específicas. Por este motivo puede haber resultados de positividad con una sonda genotipo-específica y no con la sonda U; en estos casos, la ausencia de positividad en la sonda

U no invalida el análisis ni el resultado positivo para un genotipo específico. Cuando sólo aparece señal de HPV (U) no asociada a positividad de sonda específica, el software interpreta la muestra como "HPV POSITIVO, GENOTIPO NO DETERMINADO". Este resultado estaría indicando que la muestra es positiva pero que no se ha identificado el genotipo específico, pudiendo tratarse de otro genotipo diferente a los incluidos en el panel.

A continuación, se expone un ejemplo de un informe en el que el caso analizado ha sido positivo para HPV 56.



WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.060



WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



HPV Direct Flow Chip Kit

LOTES

PCR:	HPV0014U	30/12/2020
Chips:	HPVE-56	30/12/2019
Reactivo:	H057-5	30/12/2020

DETALLES DE LA MUESTRA

ID MUESTRA: Muestra-22

TIPO DE MUESTRA:

ID PACIENTE:

PACIENTE:

SEXO:

FECHA NAC.:

EDAD:

INFORME

HPV POSITIVO

Muestra positiva para:

Alto Riesgo:

56

Muestra negativa para el resto de genotipos incluidos en el test HPV direct-flow chip.

PROTOCOLO

Detección y genotipado del virus HPV mediante PCR y reverse dot blot, genotipos:

- Alto riesgo: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82.

- Bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44/55, 54, 61, 62/81, 67, 69, 70, 71, 72, 84.

Preparación de la muestra/extracción del ADN

- Usar la suspensión celular/DNA para amplificar por PCR.

Protocolo PCR HPV Direct Flow Chip: 1x 25°C 10 min, 1x 94°C 3min; 15x 94-47-72°C (30"-30"-30"), 35x 94-65-72°C (30"-30"-30"), 1x 72°C 5 min.

Protocolo REVERSE-DOT BLOT:

- Hibridación del producto de PCR biotinilado con HPV CHIP

- Lavados post-hibridación

- Incubación con enzima Estreptavidina-Fosfatasa

- Revelado con NBT-BCIP

Análisis automático de resultados

NOTAS

FACULTATIVO: Default Doctor, doctor

Validado: 20/03/2019

Realizado por: Default Tech, tech

Procesado: 20/03/2019

Instr.: Mock Serial N°: 100001

hybriSoft: HSHS 2.2.0.R00 / HSHS IPL 1.0.0.R05


WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
12.798.060


WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229

Vitro, S.A.

Calle Luis Fuentes Bejarano, 60, Edificio Nudo Norte, Local 3, 41020 Sevilla (Spain).

Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio



HPV Direct Flow Chip Kit

LOTES

PCR:	HPV0014U	30/12/2020
Chips:	HPVE-56	30/12/2019
Reactivo:	H057-5	30/12/2020

DETALLES DE LA MUESTRA

ID MUESTRA: Muestra-22

TIPO DE MUESTRA:

ID PACIENTE:

PACIENTE:

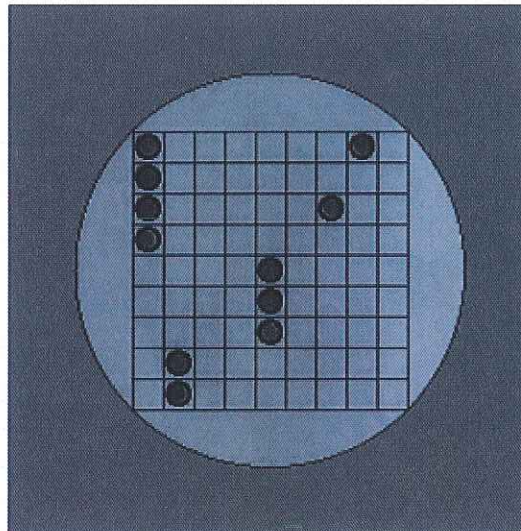
SEXO: -

FECHA NAC.:

EDAD:

INFORME

B	33	58	42	71	16	52	B	
B	35	59	43	72	18	53	6	69
C	39	66	44/55		26	56	11	70
U	45	68	54	84	31	58	40	71
16	51	73	61	B	33	59	44/55	72
18	52	82	62/81	C	35	66	54	
26	53	6	67	U	39	68	61	84
31	56	11	69	42	45	73	62/81	
	B	40	70	43	51	82	67	



- Spot B: Control de hibridación (5 puntos para orientar correctamente el CHIP)
 - Spot C: Control interno de DNA (Sonda de DNA genómico humano)
 - Spot U: Sonda universal para HPV
 - Spot #: Sondas específicas para cada genotipo HPV
- Todos los puntos están impresos por duplicado.

INFORMACIÓN DEL ANÁLISIS

Umbral: 6

FACULTATIVO: Default Doctor, doctor

Validado: 20/03/2019

Realizado por: Default Tech, tech

Procesado: 20/03/2019

Instr.: Mock Serial N°: 100001

hybriSoft: HSHS 2.2.0.R00 / HSHS IPL 1.0.0.R05

Vitro, S.A.
Calle Luis Fuentes Bejarano, 60, Edificio Nudo Norte, Local 3, 41020 Sevilla (Spain).
Tel: +34 954 933 200. vitro@vitro.bio; www.vitro.bio

WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGHOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.050

WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



12 CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO

12.1 Funcionamiento Analítico

12.1.1 Repetibilidad

La repetibilidad se analizó ensayando el método 6 veces para cada una de las dianas incluidas en el panel. Este ensayo se llevó a cabo de forma idéntica en todos los formatos (Monotest Iyo, "Bulk wet" y "Bulk Iyo"), utilizando como molde fragmentos sintéticos de DNA correspondientes a todos los genotipos de HPV dianas del kit. El ensayo se realizó para cada formato por un mismo operador, en una sola localización y usando un mismo lote de reactivos. Los resultados obtenidos con este formato se consideran aceptables ya que para todas las dianas se obtuvo una repetibilidad del 100%.

12.1.2 Reproducibilidad

La reproducibilidad del método se analizó simulando la variabilidad inter-laboratorio, variando el operador, los equipos utilizados en el proceso y los lotes de reactivos. Este ensayo se llevó a cabo de forma idéntica en todos los formatos (Monotest Iyo, "Bulk wet" y "Bulk Iyo") utilizando como molde fragmentos sintéticos de cada genotipo de HPV diana del kit a una concentración igual a su límite de detección. Cada determinación se ha realizado por duplicado en cada laboratorio. La concordancia de los resultados obtenidos en los dos laboratorios se evaluó utilizando el "índice kappa", el cual es un estadístico que indica la concordancia entre datos cualitativos. Los resultados obtenidos de reproducibilidad de todos los formatos se consideran aptos, puesto que mostraron una concordancia del 100% entre los resultados obtenidos por ambos laboratorios, obteniéndose un índice kappa de 1, un error estándar de cero y un IC 95% de 1-1.

12.1.3 Especificidad analítica

Especificidad intrapanel: Se analizó la especificidad de cada genotipo de HPV incluido en el panel usando 5×10^6 GE/reacción como material de partida para cada reacción de PCR. Las muestras se hibridaron en la plataforma hybriSpot usando el software hybriSoft para el análisis de los resultados. No se observaron reacciones cruzadas entre los genotipos de HPV del panel, a excepción de los genotipos 44 y 55 y de los genotipos 62 y 81. Por esta razón, las sondas 62 y 81 y las sondas 44 y 55 están localizadas en la misma posición en el Chip.

Reacciones cruzadas con otros patógenos: No se observaron reacciones cruzadas con otras bacterias y virus analizados: Herpesvirus simple 1 y 2, *Neisseria gonorrhoeae*, y *Chlamydia trachomatis*.

Ensayo de sustancias interferentes: El potencial de interferencia con los resultados de la prueba de sustancias que pueden estar presentes en las muestras se evaluó utilizando una muestra negativa para HPV. Esta muestra se contaminó de forma artificial con un fragmento de DNA sintético de HPV16 a una concentración tres veces superior a su límite de detección, esto es, a 150 copias/test y se analizó por duplicado en presencia o ausencia de las siguientes sustancias:

- Interferentes endógenos (procedentes del propio organismo):
 - Moco: Se ensayó a una concentración del 0.3%.
 - Sangre: Se ensayó a una concentración del 5%.
- Interferentes exógenos (componentes que no son parte del organismo):

-Crema de clotrimazol y crema de miconazol: La crema de clotrimazol (20 mg/g) y la de miconazol (2%) se ensayaron a una concentración del 0.3%.

-Crema lubricante vaginal: Para el ensayo se utilizó Vagisil lubricante íntimo a una concentración del 0.3%.

Tanto con el protocolo de muestra directa como con el DNA purificado, no se observó interferencia o inhibición con ninguna de las sustancias probadas a las concentraciones ensayadas.

12.1.4 Sensibilidad analítica

Se realizó un ensayo para determinar la sensibilidad analítica del kit HPV Direct Flow Chip. El ensayo se llevó a cabo de forma idéntica en todos los formatos (Monotest lyo, "Bulk wet" y "Bulk lyo") utilizando como molde fragmentos sintéticos de DNA genómico de los distintos genotipos de HPV que incluye el panel de detección del kit.

La siguiente tabla muestra un resumen de los resultados obtenidos con cada genotipo HPV, todos los formatos mostraron el mismo límite de sensibilidad para cada genotipo:

Genotipo HPV	LoD DNA (Copias/reacción)	Réplicas positivas/ Réplicas totales	Sensibilidad al LoD
HPV16	50	6/6	100%
HPV39	50	6/6	100%
HPV68	50	6/6	100%
HPV58	50	6/6	100%
HPV52	50	6/6	100%
HPV18	50	6/6	100%
HPV33	50	6/6	100%
HPV59	500	6/6	100%
HPV73	50	6/6	100%
HPV53	500	6/6	100%
HPV35	500	6/6	100%
HPV26	500	6/6	100%
HPV56	500	6/6	100%
HPV51	500	6/6	100%
HPV82	50	6/6	100%
HPV6	50	6/6	100%
HPV54	50	6/6	100%
HPV84	50	6/6	100%
HPV42	50	6/6	100%
HPV71	50	6/6	100%
HPV11	50	6/6	100%
HPV69	500	6/6	100%
HPV61	500	6/6	100%
HPV43	50	6/6	100%
HPV72	50	6/6	100%
HPV44	50	6/6	100%
HPV62	50	6/6	100%
HPV40	50	6/6	100%
HPV70	50	6/6	100%
HPV45	50	6/6	100%
HPV31	50	6/6	100%

Genotipo HPV	LoD DNA (Copias/reacción)	Réplicas positivas/ Réplicas totales	Sensibilidad al LoD
HPV66	500	6/6	100%
HPV67	50	6/6	100%
HPV55	50	6/6	100%
HPV81	50	6/6	100%

Tabla 25. Resultados del ensayo de sensibilidad analítica para el HPV Direct Flow Chip Kit.

Los resultados obtenidos con todos los formatos cumplen con el criterio de aceptación establecido mostrando una sensibilidad del 100% para la concentración ensayada para cada genotipo.

12.2 Funcionamiento clínico

El rendimiento clínico del kit HPV Direct Flow Chip se evaluó determinando los parámetros de sensibilidad y especificidad diagnóstica, valor predictivo positivo y negativo e índice kappa. Estos parámetros se definen y se calculan de la siguiente manera:

- La **especificidad diagnóstica** se define como la probabilidad de que el resultado de la prueba sea positivo en una persona infectada por el virus HPV. Se expresa como un porcentaje (fracción numérica multiplicada por 100), calculada como $100 \times \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FP}}$, donde VN es el número de valores verdaderos negativos y FP es el número de valores falsos positivos.
- La **sensibilidad diagnóstica** se define como la probabilidad de que el resultado de la prueba sea negativo en una persona sana, que no esté infectada por el virus HPV. Se expresa como un porcentaje (fracción numérica multiplicada por 100), calculada como $100 \times \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}}$, donde VP es el número de valores verdaderos positivos y FN es el número de valores falsos negativos.
- El **valor predictivo positivo (VPP)** determina el porcentaje de pacientes con resultados positivos que tienen la infección. Se calcula de la siguiente manera: $\text{VPP} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}} \times 100$.
- El **valor predictivo negativo (VPN)** determina el porcentaje de pacientes con resultados negativos que no presentan la infección. Se calcula de la siguiente manera: $\text{VPN} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FN}} \times 100$.
- El **índice kappa** es un estadístico que indica la concordancia entre datos cualitativos. Un valor de kappa de 1 indica que los resultados obtenidos por dos métodos concuerdan al 100% mientras que un valor 0 indica que la concordancia se debe al azar. La interpretación de los valores kappa se muestra a continuación:

La validación clínica del kit HPV Direct Flow Chip (formato Monotest Iyo) se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa fabricante Vitro S.A. El estudio comparativo consistió en el análisis retrospectivo de un total de 428 muestras de citología líquida procedentes del Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla), del Hospital General Universitario Santa Lucía (Cartagena, Murcia) y del Hospital del Mar (Barcelona). Como método de referencia se utilizó el kit con marcado CE por el organismo notificado CE0123 "Vitro HPV Screening Kit" (Vitro, S.A. Ref. MAD-003949M-W). Se ha considerado como resultado HPV positivo aquellas muestras positivas para cualquiera de los 14 genotipos de alto riesgo oncogénico especificados anteriormente y como resultado HPV negativo cuando la muestra era negativa para HPV o positiva para el resto de los genotipos incluidos en el kit.

(probable alto riesgo o bajo riesgo). Los resultados discordantes (positivos vs negativos) se analizaron con un tercer método de referencia, Cobas® 4800 HPV Test (Roche). En el análisis de discordantes se consideró como verdadero positivo o verdadero negativo aquel resultado concordante en dos de los tres métodos utilizados. El DNA de las muestras fue extraído con el kit “Vitro RNA/DNA Pathogen Extraction kit” (Vitro, ref. MAD-003955M).

Los resultados de especificidad y sensibilidad diagnóstica, así como el valor predictivo positivo y negativo e índice kappa obtenidos del análisis de los casos clínicos indicados anteriormente se muestran en las siguientes tablas:

Diana	TN	FP	TP	FN	Nº de muestras	Sensibilidad Diagnóstica	IC 95%	Especificidad Diagnóstica	IC 95%
HPV	61	0	365	2	428	99%	(0.99 - 1)	100%	(1 - 1)

Tabla 26. Resultados de sensibilidad y especificidad diagnóstica obtenidos con el kit HPV Direct Flow Chip.

Diana	TN	FP	TP	FN	Nº de muestras	VPP	IC 95%	VPN	IC 95%
HPV	61	0	365	2	428	100%	(1 - 1)	97%	(0.92 - 1.01)

Tabla 27. Valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del kit HPV Direct Flow Chip.

ADN diana	ÍNDICE KAPPA	ERROR ESTÁNDAR	IC 95%	FUERZA DE LA CONCORDANCIA
HPV	0.981	0.013	(0.96 - 1.01)	Muy buena

Tabla 28. Índice kappa del kit HPV Direct Flow Chip.

Los resultados obtenidos en el ensayo de validación clínica del kit HPV Direct Flow Chip en formato Monotest lyo son óptimos ya que cumplen con los criterios de aceptación previamente establecidos.

La verificación del correcto funcionamiento del kit HPV Direct Flow Chip en formato “Bulk Wet” y “Bulk Lyo” se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa fabricante Vitro S.A. El funcionamiento de ambos formatos se evaluó partiendo tanto de muestra directa como de DNA purificado. El funcionamiento clínico del kit es equivalente en los tres formatos. La concordancia de los resultados obtenidos con el formato “Bulk Wet” y el formato “Bulk Lyo” vs Monotest lyo fue del 100% (Kappa = 1) con los cuatro tipos de muestra directa que se incluyeron en el ensayo: torundas citológicas, citología líquida, muestras cérvico-vaginales obtenidas con el kit de auto toma “Cervico-vaginal self collection kit” y secciones parafinadas.

Además de este estudio, el kit HPV Direct Flow Chip Kit se ha utilizado en numerosas publicaciones científicas. En el apartado de bibliografía, las publicaciones de la 6 a la 17 están relacionadas con el kit mencionado.

13 LIMITACIONES

- Los resultados de la prueba deben ser evaluados por un profesional sanitario en el contexto del historial médico, los síntomas clínicos y otras pruebas de diagnóstico.
- El kit HPV Direct Flow Chip Kit ha sido validado con hisopos vaginales y anales, citología líquida, muestras cérvico-vaginales obtenidas con el kit Cervico-Vaginal Self Collection , citología en medio de transporte de muestras (STM) Digene y cortes de tejido parafinados (ver sección 7). Es más, el sistema ha sido validado utilizando como material de partida el producto de amplificación obtenido con el kit Vitro HPV Screening (Vitro, S.A. Ref. MAD-003949M). El uso de cualquier otro tipo de muestra puede generar resultados

erróneos y debe verificarse previamente su funcionamiento.

- El correcto funcionamiento de la prueba depende de la calidad de la muestra; tanto la extracción del ácido nucleico como la preparación de la suspensión celular deben hacerse de forma adecuada. Una forma inadecuada de recolección, almacenaje y/o transporte de las muestras puede dar lugar a falsos negativos.
- Se puede detectar un bajo número de copias del molde diana, inferiores al límite de detección del test, pero los resultados pueden no ser reproducibles.
- Un test positivo para HPV no excluye la posibilidad de que otros patógenos estén presentes en la muestra clínica.
- Un resultado negativo del test no excluye que haya una infección por HPV y no debería usarse como único método diagnóstico para establecer una pauta de tratamiento o de manejo del paciente.
- Un resultado negativo del test debe ser analizado en el contexto de la historia clínica del paciente y de los datos epidemiológicos.

14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Problema	Causas	Soluciones
No se observa ninguna señal/ no hay señal de hibridación.	Error durante el protocolo de hibridación.	Comprobar que el equipo hybriSpot funciona de forma adecuada y todos los reactivos se han añadido correctamente. Repetir el ensayo.
	Reactivos de hibridación caducados o almacenados de forma errónea.	Comprobar la fecha de caducidad y las condiciones de almacenamiento de los reactivos y los Chips. Repetir el ensayo.
	Sondas del Chip degradadas por restos de reactivos descontaminantes (ej. Lejía) en los pocillos.	Limpia con agua destilada abundante y repetir el experimento.
Detección de HPV en el control negativo.	Problemas de contaminación en las zonas de pre-PCR y/o post-PCR.	Limpia bien las zonas de trabajo y repetir el experimento.
Ausencia de señales en el control de amplificación endógeno.	Cantidad insuficiente de ADN en la muestra clínica.	Repetir la PCR aumentando la cantidad de muestra de partida. Repetir el ensayo.
	Presencia de inhibidores de PCR.	Purificar el ADN de la muestra y repetir el ensayo.
Presencia de precipitados del cromógeno en el Chip después de la finalización del protocolo de hibridación.	Alto contenido en células y/o sangre de la muestra.	Repetir la PCR diluyendo la muestra de partida.
Señales débiles en la hibridación.	Reactivos de PCR y/o hibridación caducados o almacenados de forma incorrecta.	Comprobar la fecha de caducidad de todos los reactivos y las condiciones de almacenamiento. Repetir el ensayo.
	Volumen de muestra erróneo usado para resuspender el liofilizado	Repetir el ensayo usando el volumen correcto de muestra
	Error durante el protocolo de hibridación.	Comprobar el correcto funcionamiento de hybriSpot HS12/12a/24/24a y el protocolo de hibridación. Repetir el ensayo.











Problema	Causas	Soluciones
	Baja calidad/cantidad de ADN en la muestra	Concentrar la muestra durante su procesamiento añadiendo menos volumen de agua.

15 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- zur Hausen H, Meinhof W, Scheiber W, Bornkamm GW (1974). Attempts to detect virus specific ADN in human tumors. I. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus. *Int J Cancer* 13: 650-6.
- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV *et al* (1999). Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189: 12-9.
- zur Hausen H (1996). Papillomavirus infections-a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1288: F55-78.
- zur Hausen H (2002). Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2: 342-50.
- Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ (2003). Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 348 (6): 518-27
- Odeh, H. I., Al-Badi, S. R., Karima, B., Saeed, T. A., Rahamathullah, N., Ibrahim, E. H., Ismail, M. K., & Arshad Khan, Z. (2023). Exploring the prevalence of Human Papillomavirus (HPV) genotypes in PAP smear samples of women in northern region of United Arab Emirates (UAE): HPV Direct Flow CHIP system-based pilot study. *PloS one*, 18(9), e0286889.
- Remirez-Castellanos, A. L., Piña-Sanchez, P., Mantilla-Morales, A., Valenzuela-Gonzalez, W., & Candanedo González, F., Sr. (2023). Human Papillomavirus-Related Recurrent Multiphenotypic Sinonasal Carcinoma With HPV Genotype 56 Detected by HPV Direct Flow CHIP. *Cureus*, 15(6), e40413.
- Othman, A., Goreal, A., & Pity, I. (2022). Molecular Detection of Human Papillomaviruses in Formalin Fixed Paraffin Embedded Sections from Different Anogenital Lesions in Duhok-Iraq. *Diagnostics* (Basel, Switzerland), 12(10), 2496.
- Rideg, O., Dergez, T., Farkas, K., Kovács, K., Kálmán, E., Tornóczy, T., & Oszter, A. (2022). High Prevalence of Non-Vaccinated Oncogenic Human Papillomavirus Genotypes in High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix: Thought-Provoking Results of a Detailed HPV Genotype Analysis. *Vaccines*, 10(5), 748.
- Zare-Bidaki, M., Zardast, M., Nadjafi-Semnani, A., Nadjafi-Semnani, M., Javanmard, D., Ghafari, S., & Ghanbarzadeh, N. (2022). Investigation of frequency and typing of human papillomavirus among genital warts using a reverse dot blot hybridization approach. *BMC infectious diseases*, 22(1), 278.
- Maueia, C., Murahwa, A., Manjate, A., Andersson, S., Sacarlal, J., Kenga, D., Mussá, T., & Williamson, A. L. (2021). Identification of the Human Papillomavirus Genotypes, According to the Human Immunodeficiency Virus Status in a Cohort of Women from Maputo, Mozambique. *Viruses*, 14(1), 24.
- Bitarafan, F., Hekmat, M. R., Khodaeian, M., Razmara, E., Ashrafganjoei, T., Modares Gilani, M., Mohit, M., Aminimoghaddam, S., Cheraghi, F., Khalesi, R., Rajabzadeh, P., Sarmadi, S., & Garshasbi, M. (2021). Prevalence and Genotype Distribution of Human Papillomavirus Infection among 12076 Iranian Women. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 111, 295–302.

- 13 Rideg, O., Oszter, A., Makk, E., Kálmán, E., Farkas, K., Tornóczky, T., & Kovács, K. (2021). Wide Spectrum Analysis of Human Papillomavirus Genotypes in External Anogenital Warts. *Vaccines*, 9(6), 604.
- 14 Eklund, C., Forslund, O., Wallin, K. L., & Dillner, J. (2018). Continuing global improvement in human papillomavirus DNA genotyping services: The 2013 and 2014 HPV LabNet international proficiency studies. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 101, 74–85.
- 15 Delgado-García, S., Martínez-Escoriza, J. C., Alba, A., Martín-Bayón, T. A., Ballester-Galiana, H., Peiró, G., Caballero, P., & Ponce-Lorenzo, J. (2017). Presence of human papillomavirus DNA in breast cancer: a Spanish case-control study. *BMC cancer*, 17(1), 320.
- 16 Herraiz-Hernandez, E., Preda, O., Alonso, S., Pardo, R. S., & Olmo, A. (2013). Detection and Genotyping of Human Papillomavirus DNA in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Specimens with the HPV Direct Flow CHIP System. *The open virology journal*, 7, 91–95.
- 17 Herraiz-Hernandez, E., Alvarez-Perez, M., Navarro-Bustos, G., Esquivias, J., Alonso, S., Aneiros-Fernandez, J., Lacruz-Pelea, C., Sanchez-Aguera, M., Santamaria, J. S., de Antonio, J. C., & Rodriguez-Peralto, J. L. (2013). HPV Direct Flow CHIP: a new human papillomavirus genotyping method based on direct PCR from crude-cell extracts. *Journal of virological methods*, 193(1), 9–17.
- 18 Kokkat, T. J., Patel, M. S., McGarvey, D., LiVolsi, V. A., & Baloch, Z. W. (2013). Archived formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) blocks: A valuable underexploited resource for extraction of DNA, RNA, and protein. *Biopreservation and biobanking*, 11(2), 101–106.

16 SÍMBOLOS DE LA ETIQUETA Y CAJA

	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Fecha de caducidad
	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Código de lote		Fabricante
	Consúlte las instrucciones de uso		Contenido suficiente para <n> ensayos
	Ficha de datos de seguridad		Manténgase fuera de la luz del sol

17 HISTÓRICO DE CAMBIOS

Fecha	Descripción
2024-03-05	Se actualiza el documento para adaptarlo al Reglamento (UE) IVDR 2017/746



WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.796.060




WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229




MODELO DE RÓTULOS HPV DIRECT FLOW CHIP KIT

Etiqueta de la caja HPV Direct Flow Chip Kit (24 tests)


 **HPV Direct-Flow Chip Kit (HS12)** CE
IVD

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

REF MAD-003930MU-HS12-24 (24 tests)
LOT HPVP034-B+H056
03/2019 *20°C* ^{8°C}




EAN:8435421211353




(01)08435421211353(17)190331(10)HPVP034-B+H056

Etiqueta de la caja PCR Reagents


 **HPV Direct-Flow Chip Kit (HS12)
(PCR Reagents)** CE
IVD

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

REF MAD-003930MU-P-HS12-24 (24 tests)
LOT HPVP034-B
05/2019 *20°C* ^{8°C}




EAN:8435421211360




(01)08435421211360(17)190531(10)HPVP034-B


HPV PCR mix

 **REF** MAD-003930MU-MIX (8 test)
LOT HPVP034U-B
06/2019 *20°C* ^{8°C} CE
IVD

 **RNase/DNase-free distilled water**

REF MAD-DDW (30 ml)
LOT XXXXX
2021-02 *20°C* ^{8°C}





WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.060

WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229

Etiqueta de la caja Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Agentes de hibridación)



**Flow Chip Hybridization Reagents
Type I (Manual)**

CE

IVD

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

REF MAD-003925M-HS12 (24 tests)

LOT XXXXX

2025-11

2°C ~~8°C~~



EAN:8435421223141



(01)08435421223141(17)251130(10)XXXXX

Hybridization Solution (Reagent A)



REF MAD-003930MA-HS12-24 (24 tests)

LOT A056

07/2019

2°C ~~8°C~~

CE

IVD

Blocking Solution (Reagent B)



REF MAD-003930MB-HS12-24 (24 tests)

LOT B046

07/2019

2°C ~~8°C~~

CE

IVD

**Streptavidin-Alkaline Phosphatase
(Reagent C)**



REF MAD-003930MC-HS12-24 (24 tests)

LOT C072

03/2019

2°C ~~8°C~~

CE



IVD




WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.060

WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229

Washing Buffer I (Reagent D)  REF MAD-003930MD-HS12-24 (24 tests) LOT D050  05/2019 2°C λ 8°C  	Reagent E  REF MAD-003930ME LOT E047  06/2019 2°C λ 8°C  
Washing Buffer II (Reagent F)  REF MAD-003930MF-HS12-24 (24 tests) LOT F042  07/2019 2°C λ 8°C  	

HPV Chip (HS)

 **REF** MAD-003930M-CH-HS-24 (24 units)
LOT HPVE051.2
 06/2019 2°C λ 8°C

WM Argentina S.A. coloca el siguiente rótulo:

HPV Direct Flow Chip Kit (24 tests)

Fabricante: Vitro S.A.-España

Importador: WM Argentina S.A.- Choele Choel 1010 – Lanús, Prov. de Buenos Aires, Argentina.

Directora Técnica: Bioq. María Paula Marchione - Matrícula Nacional: 12496

At. al cliente: +54 9 11 6748-4052/ atencionalcliente@wmargentina.com.ar


VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS. EXCLUSIVO USO PROFESIONAL

Autorizado por A.N.M.A.T – PM-794-813


WM ARGENTINA S.A.
 ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
 DIRECTOR APODERADO
 D.N.I. 12.798.060



 WM ARGENTINA S.A.
 MARIA PAULA MARCHIONE
 DIRECTORA TECNICA
 BIOQUIMICA
 M.N. 12496 M.P. 8229

Etiqueta de la caja HPV Direct Flow Chip Kit (48 test)


 **HPV Direct-Flow Chip Kit (HS12)** CE
IVD

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

REF MAD-003930MU-HS12-48 (48 tests)
LOT HPVP032-A+H055-6
03/2019 2°C 8°C




EAN:8435421211414




(01)08435421211414(17)190331(10)HPVP032-A+H055-6

Etiqueta de la caja PCR Reagents


 **HPV Direct-Flow Chip Kit (HS12)
(PCR Reagents)** CE
IVD

Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

REF MAD-003930MU-P-HS12-48 (48 tests)
LOT HPVP032-A
03/2019 2°C 8°C



EAN:8435421209664



(01)08435421209664(17)190331(10)HPVP032-A

HPV PCR mix

 **REF** MAD-003930MU-MIX (8 test) CE
IVD
LOT HPV034U-B
05/2019 2°C 8°C



WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.060



WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



RNAse/DNAse-free distilled water

REF MAD-DDW (30 ml)

LOT XXXXX

2021-02 2°C 8°C

Etiqueta de la caja Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Agentes de hibridación)



Vitro, S.A.
C/ Luis Fuentes Bejarano, 60
Ed Nudo Norte Local 3
41020 - Sevilla (Spain)

Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual)

CE

IVD

REF MAD-003925M-HS12-48 (48 test)

LOT XXXXX

2025-09 2°C 8°C



EAN:8435421276949



(01)08435421276949(17)250930(10)XXXXX

WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.060

WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



Hybridization Solution (Reagent A)

REF MAD-003930MA-HS12-48 (48 tests)

LOT A056

07/2019

2°C λ 8°C

CE

IVD



Blocking Solution (Reagent B)

REF MAD-003930MB-HS12-48 (48 tests)

LOT B046

07/2019

2°C λ 8°C

CE

IVD



Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C)

REF MAD-003930MC-HS12-48 (48 tests)

LOT C072

03/2019

2°C λ 8°C

CE

IVD



Washing Buffer I (Reagent D)

REF MAD-003930MD-HS12-48 (48 tests)

LOT D051

07/2019

2°C λ 8°C

CE

IVD



Reagent E

REF MAD-003930ME-HS12-48 (48 tests)

LOT E048

08/2019

2°C λ 8°C

CE

IVD



Washing Buffer II (Reagent F)

REF MAD-003930MF-HS12-48 (48 tests)

LOT F042

07/2019

2°C λ 8°C

CE

IVD



HPV Chip (HS)

REF MAD-003930M-CH-HS-24 (24 units)

LOT HPVE051.2

06/2019

2°C λ 8°C



CE

IVD

WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR APODERADO
D.N.I. 12.798.060

WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229

WM Argentina S.A. coloca el siguiente rótulo:

HPV Direct Flow Chip Kit (48 tests)

Fabricante: Vitro S.A.-España

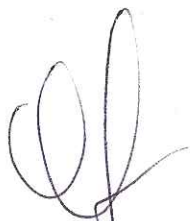
Importador: WM Argentina S.A.- Choele Choel 1010 – Lanús, Prov. de Buenos Aires, Argentina.

Directora Técnica: Bioq. María Paula Marchione - Matrícula Nacional: 12496

At. al cliente: +54 9 11 6748-4052/ atencionalcliente@wmargentina.com.ar

VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS. EXCLUSIVO USO PROFESIONAL

Autorizado por A.N.M.A.T – PM-794- 813



WM ARGENTINA S.A.
ANTONIO SANTIAGO ANTOGNOLLI
DIRECTOR - APODERADO
D.N.I. 12.798.050



WM ARGENTINA S.A.
MARIA PAULA MARCHIONE
DIRECTORA TECNICA
BIOQUIMICA
M.N. 12496 M.P. 8229



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: WM ARGENTINA S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 43 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.05 12:30:47 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.05 12:30:49 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001896-24-4

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

Expediente N° 1-0047-3110-001896-24-4

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por WM Argentina 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: HPV Direct Flow Chip kit

Marca comercial: Vitro S.A.

Modelos:

- 1)HPV Direct Flow Chip Kit (HS-12)- Ref: MAD-003930MU-HS12-24
- 2)HPV Direct Flow Chip Kit (HS-12)- Ref: MAD-003930MU-HS12-48

Indicación/es de uso:

Indicación de uso: HPV Direct-Flow CHIP es un sistema de detección in vitro diseñado para screening y

genotipado simultaneo de 35 genotipos HPV (Virus del Papiloma Humano) de alto riesgo oncogénico (HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82) y bajo riesgo oncogénico (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81 y 84) mediante PCR (polymerase chain reaction), seguido de hibridación automática por reverse dot-blot, basada en la tecnología DNA-Flow.

Forma de presentación: 1) HPV Direct Flow Chip Kit (HS-12)- Ref: MAD-003930MU-HS12-24: Para 24 tests-
Uso manual

a) HPV Direct Flow Chip Kit (PCR Reagents)- Reactivos para PCR (Ref: MAD-003930MU-P-HS12-24):

- HPV PCR Mix (Ref: MAD-003930MU-MIX): 3 tiras x 8 tubos (liofilizado)
- RNASE /DNASE- FREE Distille Water (Ref: MAD-DDW): Frasco x 60 ml
- HPV Chip (HS) (Ref:MAD-003930M-CH-HS-24): 1 x 24 unidades

b) Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual) -Reactivos para hibridación reversa Tipo I (Ref: MAD-003925M-HS-12):

- Hybridization Solution (Reagent A) (Ref: MAD003930MA-HS12-24): Frasco x 40 ml
- Blocking Solution (Reagent B)(Ref: MAD-003930MB-HS12-24): Frasco x 10ml
- Streptavidin Alkaline Phosphatase (Reagent C) (Ref:MAD-003930MC-HS12-24): Frasco x 10 ml
- Washing Buffer I (Reagent D) (Ref: MAD-003930MD-HS12-24): Frasco x 35 ml
- Reagent E (Ref:MAD-003930ME): Frasco x 10 ml
- Washing Buffer II (Reagent F) (Ref:MAD-003930MF-HS12-24): Frasco x 18ml

2)HPV Direct Flow Chip Kit (HS-12)- Ref: MAD-003930MU-HS12-48: Para 48 tests- Uso manual

a) Reactivos para PCR (Ref: MAD-003930MU-P-HS12-48):

- HPV PCR Mix (Ref: MAD-003930MU-MIX): 6 tiras x 8 tubos (liofilizado)
- RNASE/DNASE- FREE Distilled Water (Ref: MAD-DDW): 2 Frascos x 60 ml (120 ml)
- HPV Chip (HS) (Ref:MAD-003930M-CH-HS-24): 2 x 24 unidades

b) Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual) Reactivos para hibridación reversa Tipo I (Ref: MAD-003925M-HS12-48)

- Hybridization Solution (Reagent A) (Ref: MAD003930MA-HS12-48): Frasco x 80 ml
- Blocking Solution (Reagent B)(Ref: MAD-003930MB-HS12-48): Frasco x 18 ml
- Streptavidin Alkaline Phosphatase (Reagent C) (Ref:MAD-003930MC-HS12-48): Frasco x 18 ml
- Washing Buffer I (Reagent D) (Ref: MAD-003930MD-HS12-48): Frasco x 70 ml
- Reagent E (Ref:MAD-003930ME-HS12-48) : Frasco x 18 ml
- Washing Buffer II (Reagent F) (Ref:MAD-003930MF-HS12-48): Frasco x 35 ml

Período de vida útil: -Reactivos para PCR (Ref: MAD-003930MU-P-HS12-24) y (Ref: MAD-003930MU-P-HS12-48): Estables durante 24 meses a una temperatura de entre 2-8 °C y durante 18 meses a temperatura ambiente.

-Hybridization Reagents: Reagents A, B,D,E,F: Estables durante 18 meses almacenados a 2-8 °C

-Hybridization Reagents: Reagent C: Estables durante 12 meses almacenados 2-8°C

-HPV Direct Flow Chip kit: Estables al menos durante 24 meses almacenados a 2-8 °C y al menos 6 meses si han sufrido previamente un calentamiento a 37°C o 50°C durante 14 días.

Nombre del fabricante:

Vitro S.A.

Lugar de elaboración:

Luis Fuentes Bejarano 60, Edificio Nudo Norte- Local 3, 41020- Sevilla – 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 794-813 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

N° 1-0047-3110-001896-24-4

N° Identificadorio Trámite: 57440

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.06.06 18:02:44 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRÓNICA - GDE
Date: 2024.06.06 18:02:46 -03:00