

Allplex™

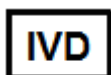
H. pylori & ClariR Assay

(Núm. Cat. HC10199Y)

Sistema de PCR múltiple en tiempo real para la detección de *H. pylori* y mutaciones de A2143G, A2142G y A2142C en el gen 23S rRNA responsable de la resistencia a la claritromicina de *H. pylori*.

Para usar con el

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)



Solo para diagnóstico in vitro



HC10199Y



Seegene Inc.,

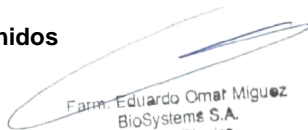
Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seul, República de Corea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Alemania

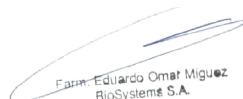
No está disponible en Estados Unidos


Fernando Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| AVISOS | 3 |
| USO PREVISTO | 4 |
| PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS | 5 |
| INFORMACIÓN GENERAL | 7 |
| REACTIVOS | 8 |
| ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN | 9 |
| MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS | 9 |
| PROTOCOLO | 10 |
| CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS | 17 |
| RESULTADOS | 37 |
| SOLUCIÓN DE PROBLEMAS | 40 |
| RENDIMIENTO | 42 |
| REFERENCIAS | 50 |
| SÍMBOLOS | 51 |
| INFORMACIÓN DE PEDIDO | 52 |



Eduardo Omat Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

AVISOS

- Solo para diagnóstico *in vitro*.
- La fiabilidad de los resultados depende de que las muestras sean adecuadamente recogidas, almacenadas, transportadas y procesadas.
- **Este test ha sido aprobado para los siguientes tipos de muestras: Biopsia gástrica y heces humanas (muestra reciente de heces y heces conservadas en medio de transporte).** Este test no ha sido aprobado para ningún otro tipo de muestra.
- **Para la muestra de biopsia gástrica, solo se han validado los kits de extracción manual de ácido nucleico.**
- **Almacene las muestras DNA a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ hasta que se vayan a usar y consérvelas en baño de hielo durante su uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede disminuir si las muestras se congelan y descongelan repetidas veces o si se almacenan durante mucho tiempo.
- El flujo de trabajo en el laboratorio debería desarrollarse de manera unidireccional.
- Deben llevarse siempre guantes desechables en cada zona y cambiarlos antes de entrar en las diferentes zonas. En caso de que se contaminen, se deben cambiar inmediatamente o tratar con un reactivo descontaminante de DNA.
- Destine materiales y equipamiento a estaciones de trabajo separadas y no los mueva de una zona a otra.
- No se debe pipetear con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las zonas de trabajo del laboratorio. Al manipular las muestras y reactivos, han de llevarse guantes sin talco desechables, bata de laboratorio y protección en los ojos. Deben lavarse bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de la prueba.
- Evite contaminar los reactivos al quitar las partes alícuotas de los tubos de reactivos. Se recomienda usar puntas de pipeta desechables estériles, resistentes a los aerosoles.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
- No use el producto después de su fecha de caducidad.
- No reúse los elementos desechables.
- Use tubos con tapa de rosca y evite cualquier posible salpicadura o contaminación cruzada de las muestras durante la preparación.
- Por favor, tenga cuidado de no contaminar los reactivos con ácidos nucleicos extraídos, productos de PCR y control positivo. Para evitar la contaminación de los reactivos, se recomienda utilizar puntas con filtro.
- Use zonas de trabajo separadas y segregadas para cada experimento.

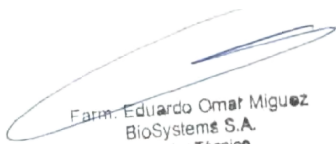
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17303

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Para evitar la contaminación de áreas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos de reacción o cintas PCR solamente en las áreas de trabajo asignadas, después de la amplificación.
- Los materiales positivos se han de almacenar separados de los reactivos del kit.
- Deben adoptarse los procedimientos de seguridad de laboratorio (consulte los documentos de Bioseguridad en los laboratorios microbiológicos y biomédicos y CLSI) al manipular las muestras. Limpie y desinfecte exhaustivamente todas las superficies de trabajo con hipoclorito de sodio al 0,5% (en agua desionizada o destilada). Los componentes del producto (residuos del producto, embalaje) se pueden considerar como residuos de laboratorio. Deseche los reactivos sin utilizar y los residuos conforme a las normativas nacionales, regionales y locales de aplicación.
- El nombre de la marca “CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD” pasó a ser “CFX96™ Dx System”. Ya que no se hicieron cambios al hardware del sistema, se espera que se obtengan los mismos resultados con ambos sistemas.
- El “CFX Manager™ Dx Software v3.1” es la versión actualizada del “CFX Manager™ Software-IVD v1.6”. El software actualizado incluye mejoras al menú “Run” (Ejecutar). Estas mejoras no afectan los resultados del análisis de datos; por lo que los resultados serán los mismos.
- Este kit está pensado para ayudar en el diagnóstico diferencial enfocado de *H. pylori* y las mutaciones de A2143G, A2142G y A2142C en el gen 23S rRNA responsable de la resistencia a la claritromicina de *H. pylori*.

USO PREVISTO

Allplex™ H. pylori & ClariR Assay es un test cualitativo *in vitro* para la detección múltiple o simple de *H. pylori* y mutaciones de A2143G, A2142G y A2142C en el gen 23S rRNA responsable de la resistencia a la claritromicina de *H. pylori*.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PRINCIPIOS E INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS

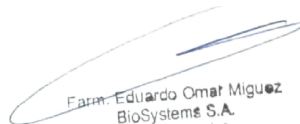
1. Principios

El Allplex™ H. pylori & ClariR Assay representa las tecnologías patentadas de Seegene y se basa en la tecnología mTOCE™, que permite realizar múltiples SNPs en instrumentos de PCR en tiempo real.

El Allplex™ H. pylori & ClariR Assay es un ensayo múltiple de PCR en tiempo real que permite la amplificación y detección simultáneas de los ácidos nucleicos diana de *H. pylori* (HP), la mutación puntual de la resistencia a la claritromicina (A2143G, A2142G y A2142C en el 23S rRNA) y el Control Interno (IC). La presencia de una secuencia patógena específica en la reacción se informa como un valor de C_t a través del análisis del visor de Seegene.

En PCR, la eficiencia de la amplificación se ve reducida con frecuencia por inhibidores presentes en muestras clínicas. Para muestras de heces humanas, el Control Interno (IC) se incorpora en el producto como un control exógeno del conjunto del proceso para controlar la extracción del ácido nucleico y comprobar una posible inhibición de PCR. El Control Interno (IC) es coamplificado con ácidos nucleicos diana dentro de las muestras clínicas. Para muestras de biopsia gástrica, se utiliza un gen endógeno humano como Control Interno (IC) de muestras de hisopos rectales para supervisar todo el proceso de recogida de muestras, extracción de ácido nucleico y constatar cualquier posible inhibición de la PCR.

Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, en el Allplex™ H. pylori & ClariR Assay se utiliza un sistema Uracil-DNA glicosilasa (UDG). El sistema UDG-dUTP se usa comúnmente cuando se realiza una PCR para eliminar los amplicones sobrantes usando escisiones por UDG de residuos de uracilo desde el DNA mediante la escisión del enlace N-glicosílicos.

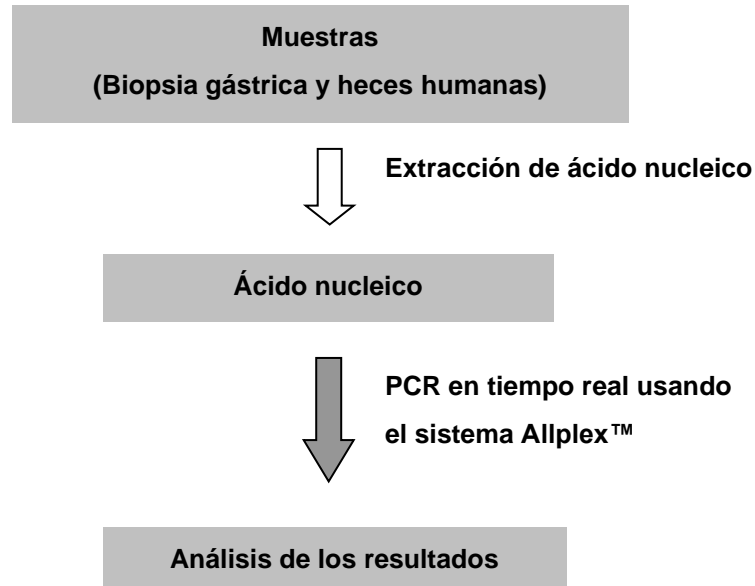


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Información sobre el procedimiento



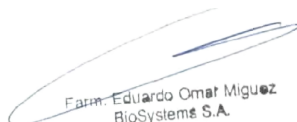

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN GENERAL

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), una de las principales causas de la gastritis crónica, está fuertemente asociado con el desarrollo de úlceras gástricas y duodenales y se ha relacionado con el adenocarcinoma gástrico y el linfoma del tejido linfoide asociado a la mucosa de células B. El tratamiento de la infección por *H. pylori* ha sido objeto de una gran cantidad de ensayos clínicos en los últimos años.

El tratamiento actual de la infección por *H. pylori* consiste en un régimen triple o cuádruple que incluye un inhibidor de protones y antibióticos, como la amoxicilina y la claritromicina. Por lo tanto, el *H. pylori* resistente a la claritromicina ha presentado un serio obstáculo para su tratamiento. Así, la detección del *H. pylori* resistente a la claritromicina antes del tratamiento es crucial para aumentar la eficacia del tratamiento al prescribir otros antibióticos y prevenir el uso indebido de los antibióticos. La mayoría de los *H. pylori* resistentes a la claritromicina tienen mutaciones puntuales en las secuencias de 2142 y 2143 bases del gen 23S rRNA, y existen como A2143G, A2142G y A2142C, respectivamente.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503




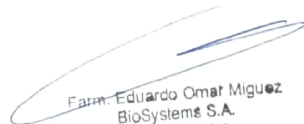
Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 50 reacciones.

Información de pedido (**REF** **HC10199Y**)

| Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | | | |
|---|-------------------|----------------|--|
| Símbolo | Contenido | Volumen | Descripción |
| PRIMER | H.ClariR MOM | 250 µL | Mezcla de oligos de MuDT (MOM): - Reactivos de amplificación y detección |
| PREMIX | EM1 | 250 µL | - Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs |
| CONTROL + | H.ClariR PC | 25 µL | Control Positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones IC |
| CONTROL IC | H.ClariR IC | 500 µL | Control Interno exógeno (IC) - para muestras de heces humanas |
| WATER | RNase-free Water | 1.000 µL | Calidad ultrapura, grado PCR |
|  | Manual de usuario | | |


 FARM. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

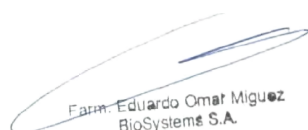
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay deben almacenarse a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El rendimiento de los componentes del kit no se ve afectado hasta que se lleven a cabo 5 congelaciones y descongelaciones. Si se van a utilizar los reactivos solo de forma intermitente, deben almacenarse en partes alícuotas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

- Guantes desechables sin talco (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubo de microcentrifugación de 1,5 mL
- Kit de extracción de ácido nucleico (véase Extracción de Ácido Nucleico)
- ASL Buffer (Tampón ASL) (Núm. Cat. 19082, Qiagen)
- FLOQ Swab (Núm. Cat. 502CS01, Copan)
- Máquina de hielo
- Centrífuga de sobremesa
- Mezclador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- Tiras de 8 tubos de perfil bajo de 0,2 mL sin tapas (color blanco, Núm. Cat. TLS0851, Bio-Rad)
- Tiras de 8 tapas planas ópticas (Núm. Cat. TCS0803, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco (Núm. Cat. HSP9655, Bio-Rad)
- Placas de PCR Hard-Shell® de 96 pocillos, perfil bajo, pared delgada, faldón, blanco / blanco, código de barras (Núm. Cat. HSP9955, Bio-Rad)
- Sello de calor permanente y transparente (Núm. Cat. 1814035, Bio-Rad)*
- PX1 PCR Sellador de placas (sellador automático, Núm. Cat. 181-4000, Bio-Rad)*

* Asegúrese de usar el sello térmico y el sellador de placas listados arriba juntos.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PROTOCOLO**1. Recogida de muestras, almacenamiento y transporte**

Nota: Todas las muestras se deben tratar como material potencialmente infeccioso. Solo se permiten los materiales de las muestras que se recojan, almacenen y transporten de acuerdo con las siguientes normas e instrucciones.

Biopsia gástrica**Heces humanas (muestra reciente de heces y heces conservadas en medio de transporte)**

Nota: Para garantizar la alta calidad de las muestras, estas se han de transportar lo más rápido posible, y según las condiciones de temperatura indicadas.

A. Recogida de muestras**Biopsia gástrica**

- No se puede utilizar tejido embebido en parafina.
- La muestra recolectada debe analizarse de inmediato para un resultado garantizado.

Muestra reciente de heces

- Coloque la muestra de heces en un recipiente hermético conservador o libre de medio.

Heces conservadas en medio de transporte

- (a) Cary Blair medio de transporte (comercial)
- (b) eNAT (COPAN)

| Kit de recogida | Fabricante | Núm. Cat. |
|-----------------------------|------------|-----------|
| eNAT 1ML R-SHAPE APPLICATOR | COPAN | 608CS01R |

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

| Muestras | Almacenamiento y transporte | | Nota |
|----------|-----------------------------|-----------|---|
| | Temp. | Duración* | |
| Biopsia | 2~8°C | 7 días | <ul style="list-style-type: none"> - El rendimiento puede verse afectado por la congelación/descongelación frecuente o el almacenamiento prolongado de muestras. - Las muestras también deben adherirse a las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno. |
| Heces | 2~8°C | 2 días | |
| | -20°C | 1 mes | |

* **Duración:** Tiempo desde la recogida de muestras hasta la realización del test, incluyendo el almacenamiento y el transporte de las muestras antes de la realización del test.

2. Extracción de ácido nucleico
2-1. Biopsia gástrica

Nota: Para la muestra de biopsia gástrica, el gen endógeno se utiliza como control interno (IC). No es necesario agregar IC para la extracción

Nota: El resultado no válido para el control interno endógeno en la muestra de biopsia gástrica aparece ocasionalmente debido al muestreo inadecuado. En este caso, por favor consulte la sección de resolución de problemas (páginas 40~41).

A. Kit de extracción de ácido nucleico manual

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

| Extracción | Kit | Fabricante | Núm. Cat. | Volumen recomendado |
|--------------------------|-----|------------|-----------|---|
| QIAamp® DSP DNA Mini Kit | | QIAGEN | 61304 | Muestra: Biopsia gástrica Elución: 50 µL |
| QIAamp® DNA Mini Kit | | QIAGEN | 51304 | Muestra: Biopsia gástrica Elución: 50 µL |

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17983

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2-2. Heces humanas

A. Tratamiento previo de las muestras

Nota: Tenga cuidado de no tomar muestras de residuos.

Nota: El volumen recomendado de sobrenadante para la extracción de ácido nucleico se muestra en **2.C y 2.D (ver página 14)**.

a. SGprep32

(a) Heces y heces conservadas en el medio de transporte Cary Blair

- Recoja la muestra de heces (**50 ~ 100 mg**) usando hisopos.
- Suspenda el hisopo en 1 mL de **ASL Buffer**.
- Pulse el agitador vórtex durante 1 minuto y luego incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Centrifugue a máxima velocidad (20.000 xg, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
- Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
- Siga el protocolo del fabricante

(b) eNAT (COPAN)

- Mezcle mediante vórtex el eNAT tubo durante 2 minutos.
- Incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Transfiera la muestra a tubos nuevos de microcentrifugación de 1,5 mL y centrifugue a máxima velocidad (20.000 x g, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
- Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
- Siga el protocolo del fabricante.

b. NucliSENS® easyMAG®

(a) Heces y heces conservadas en el medio de transporte Cary Blair

- Recoja la muestra de heces (100 ~ 200 mg) usando hisopos.
- Suspenda el hisopo en 1 mL de **NucliSENS Lysis Buffer**.
- Pulse el agitador vórtex durante 1 minuto y luego incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Centrifugue a máxima velocidad (20.000 x g, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
- Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
- Siga el protocolo del fabricante

(b) eNAT (COPAN)

- Mezcle mediante vórtex el eNAT tubo durante 2 minutos.
- Incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Fernando Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

- Transfiera la muestra a tubos nuevos de microcentrifugación de 1,5 mL y centrifugue a máxima velocidad (20.000 x g, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
- Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
- Siga el protocolo del fabricante.

c. QIAamp® DNA Mini Kit (o QIAamp® DSP DNA Mini Kit)

(a) Heces y heces conservadas en el medio de transporte Cary Blair

- Recoja la muestra de heces (100 ~ 200 mg) usando hisopos.
- Suspenda el hisopo en 1 mL de **ASL Buffer**.
- Pulse el agitador vórtex durante 1 minuto y luego incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Centrifugue a máxima velocidad (20.000 x g, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
- Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
- Siga el protocolo del fabricante

(b) eNAT (COPAN)

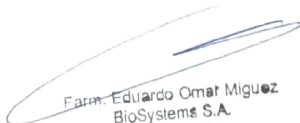
- Mezcle mediante vórtex el eNAT tubo durante 2 minutos.
- Incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Transfiera la muestra a tubos nuevos de microcentrifugación de 1,5 mL y centrifugue a máxima velocidad (20.000 x g, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
- Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
- Siga el protocolo del fabricante.

B. Control Interno

Nota: El IC se incluye en el kit para permitir a los usuarios confirmar no solo el procedimiento de extracción de ácido nucleico, sino también para identificar cualquier inhibición de PCR.

- Deben añadirse 10 µL de H.ClariR IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico
- El IC puede añadirse directamente al tampón de lisis o a la mezcla de muestras y al tampón de lisis.

Nota: En caso de añadir directamente al tampón de lisis, tenga cuidado de no introducir burbujas de aire.



Fernando Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C. Sistema de extracción de ácido nucleico automatizado

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

C-1. SGprep32

Nota: Véase el manual de funcionamiento de STARMag 96 UniPlate o STARMag 96 Unitube. Proceda al proceso de extracción usando el **'Uni-Protocol A'**.

| Sistema de extracción automatizado | Fabricante | Núm. Cat. | Volumen recomendado |
|------------------------------------|-------------|------------------|------------------------------------|
| SGprep32 | hanwool TPC | SGprep32-180701* | - |
| STARMag 96 UniPlate | Seegene | EX00003P | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |
| STARMag 96 UniTube | Seegene | EX00004T | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |

* Si quiere comprar este producto de Seegene Inc., use este número de catálogo.

C-2. NucliSENS® easyMAG®

Nota: Proceda al proceso de extracción usando el **'generic protocol'**.

| Sistema de extracción automatizado | Fabricante | Núm. Cat. | Volumen recomendado |
|------------------------------------|------------|-----------|---|
| NucliSENS® easyMAG® | bioMérieux | 200111 | Muestra: 200 µL Sílice magnética: 50 µL Elución: 100 µL |

D. Kits de extracción de ácido nucleico manual

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

| Kit de extracción | Fabricante | Núm. Cat. | Volumen recomendado |
|--------------------------|------------|-----------|------------------------------------|
| QIAamp® DSP DNA Mini Kit | QIAGEN | 61304 | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |
| QIAamp® DNA Mini Kit | QIAGEN | 51304 | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |

3. Preparación de PCR en tiempo real

Nota: Deben usarse tubos y tapas adecuados (véase páginas 9).

Nota: Deben usarse filtros resistentes a los aerosoles y guantes ajustados al preparar las reacciones de PCR de un solo paso. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: Descongele totalmente todos los reactivos en baño de hielo.

Nota: Centrifugue brevemente los tubos de reactivos para recoger las gotas residuales de dentro de la tapa.

A. Prepare la Mastermix de PCR.

| | |
|-------|-----------------------------------|
| 5 µL | H.ClariR MOM |
| 5 µL | RNase-free Water |
| 5 µL | EM1 |
| 15 µL | Volumen total de Mastermix de PCR |

Nota: Calcule la cantidad total necesaria de cada reactivo, con base en la cantidad de reacciones, incluyendo muestras y controles.

B. Mezcle rápido en un mezclador de vórtice y centrifugue brevemente.

C. Utilice una parte proporcional de 15 µL de Mastermix de PCR en los tubos de PCR.

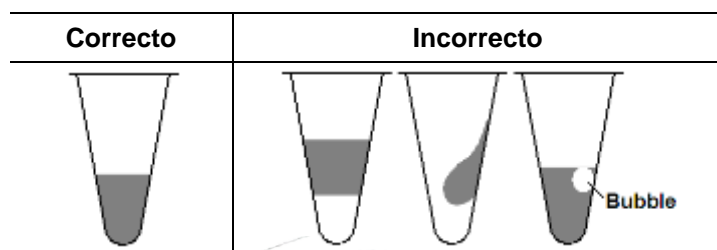
D. Añada 5 µL de los ácidos nucleicos de cada muestra en el tubo que contiene la Mastermix de PCR.

| | |
|-------|------------------------------|
| 15 µL | Mastermix de PCR |
| 5 µL | Ácido nucleico de la muestra |
| 20 µL | Volumen total de la reacción |

E. Cierre la tapa y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

F. Verifique que el líquido que contienen todos los componentes de PCR se encuentre en el fondo de cada tubo de PCR. Si no es así, centrifugue de nuevo a mayores rpm durante más tiempo.

Nota: Se recomienda centrifugar los tubos de PCR antes de la PCR para eliminar las burbujas de aire y recoger todos los líquidos residuales en el fondo de los tubos.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

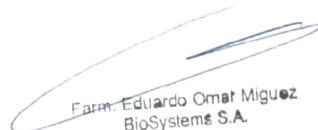
Nota: Con cada muestra, use una nueva punta de pipeta estéril.

Nota: Para el **Control Negativo (NC)**, use 5 µL de **RNase-free Water** en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el **Control Positivo (PC)**, use 5 µL de **H.ClariR PC** en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Tenga cuidado de que no se produzca una contaminación cruzada del Mastermix de PCR y de las muestras con el Control Positivo.

Nota: No etiquete el tubo de reacción en su tapa. La fluorescencia se detecta desde la parte superior de cada tubo de reacción



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONFIGURACIÓN DE INSTRUMENTOS DE PCR EN TIEMPO REAL Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)

1.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: La configuración del experimento en el CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

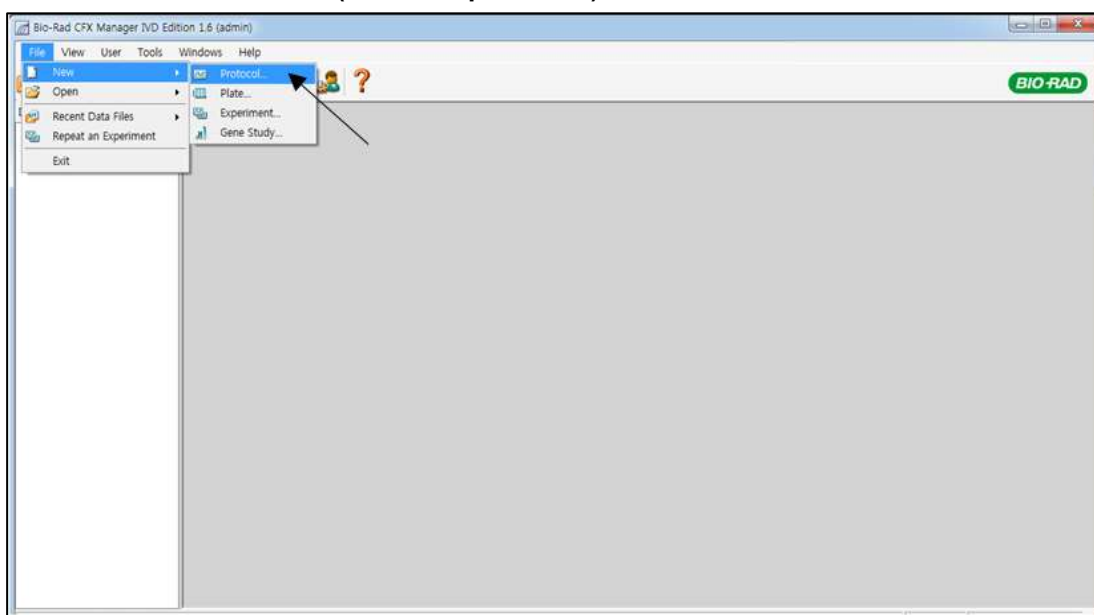


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

| Paso | No. de ciclos | Temp. | Duración |
|------|---------------------------|-------|----------|
| 1 | 1 | 95°C | 15 min |
| 2 | | 95°C | 10 seg |
| 3* | 50 | 60°C | 1 min |
| 4 | | 72°C | 10 seg |
| 5 | GOTO Paso 2, 49 veces más | | |

Nota*: Lectura de placa en el paso 3. La fluorescencia se detecta a 60°C.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
R.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

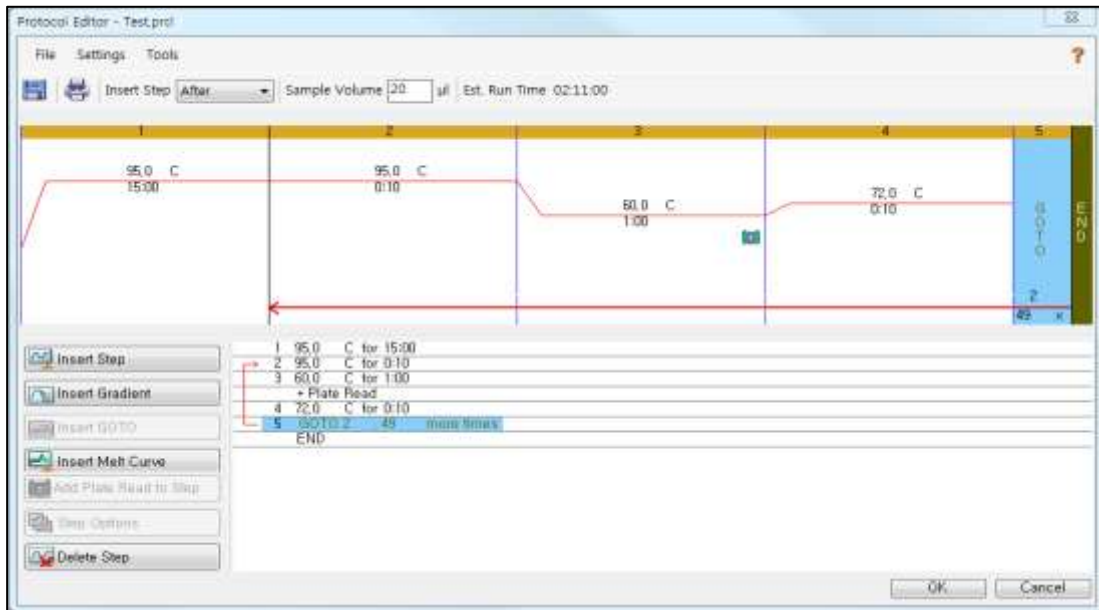


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

- 3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.
- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

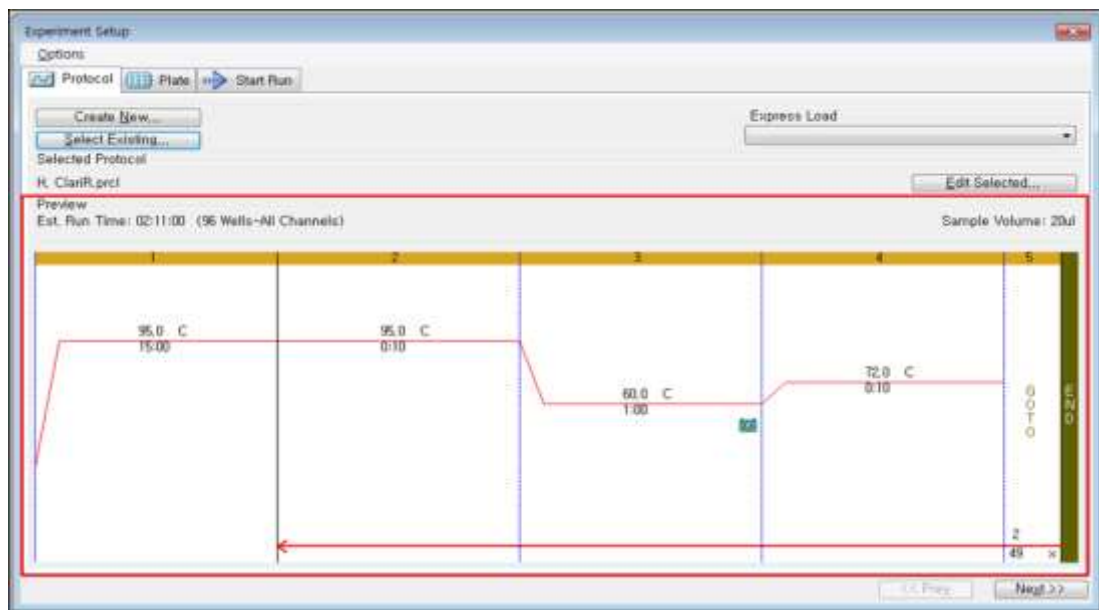


Fig. 3. Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

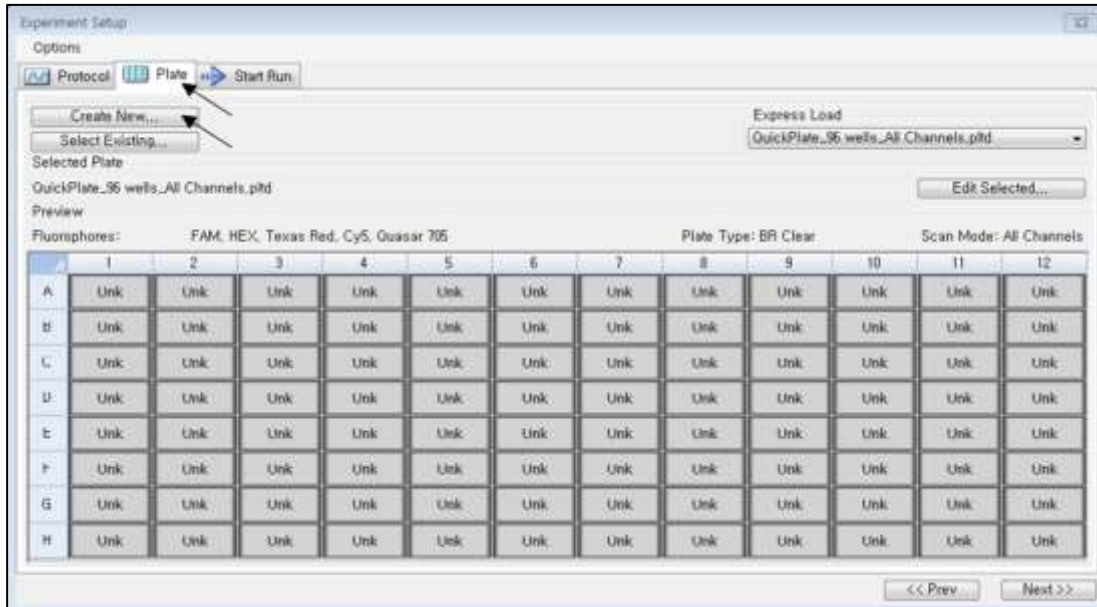


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placa)**

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

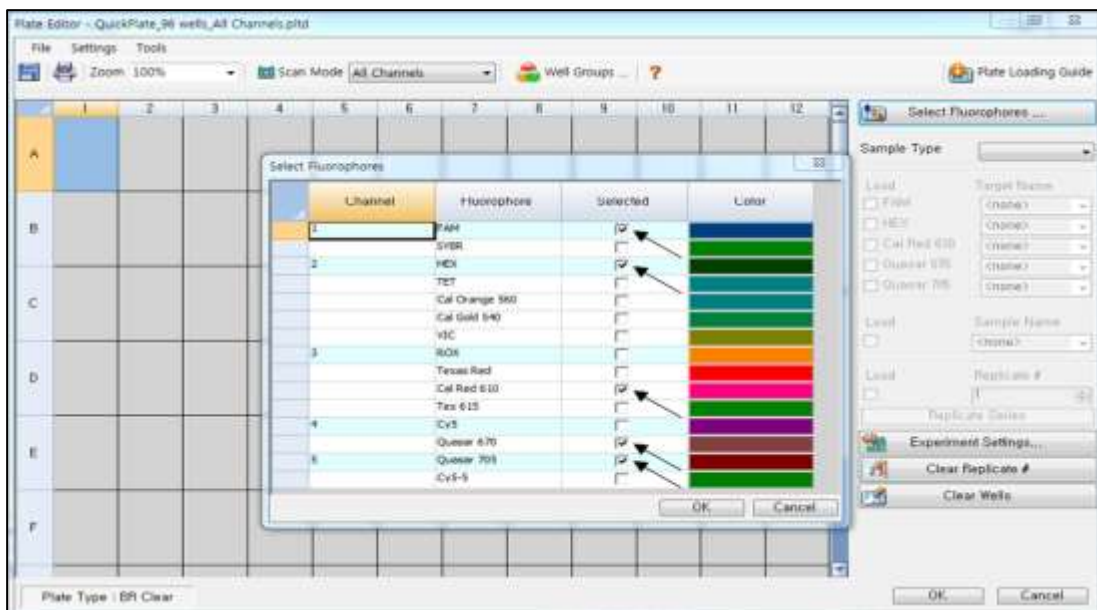


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos) (FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670, y Quasar 705)**

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type (Tipo de Muestra)**.

- **Unknown (Desconocidos):** muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

4) Haga clic en las casillas de verificación adecuadas (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y presione la tecla Intro.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

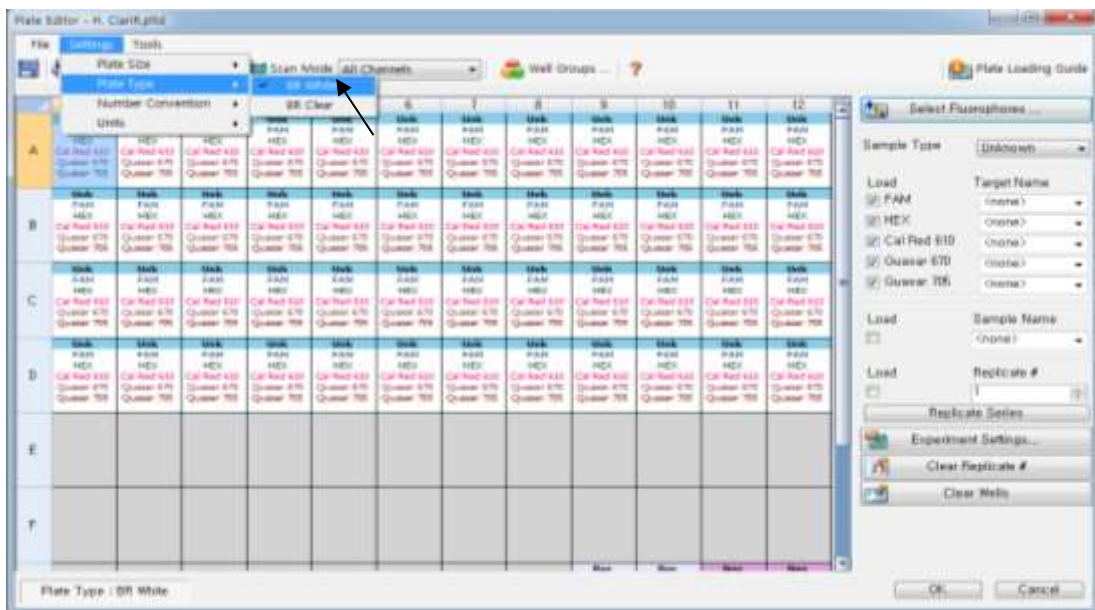


Fig. 6. **Plate Setup (Configuración de la placa)**

7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.

Eduardo Omar Miguez
 Firm: Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

8) Regresará a la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

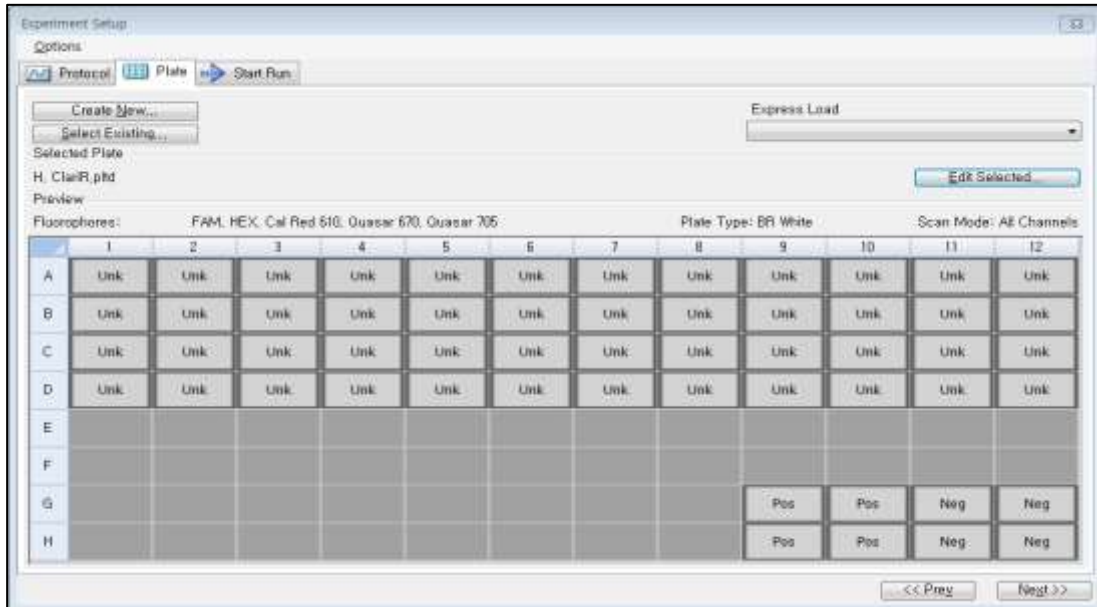


Fig. 7. **Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)**

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

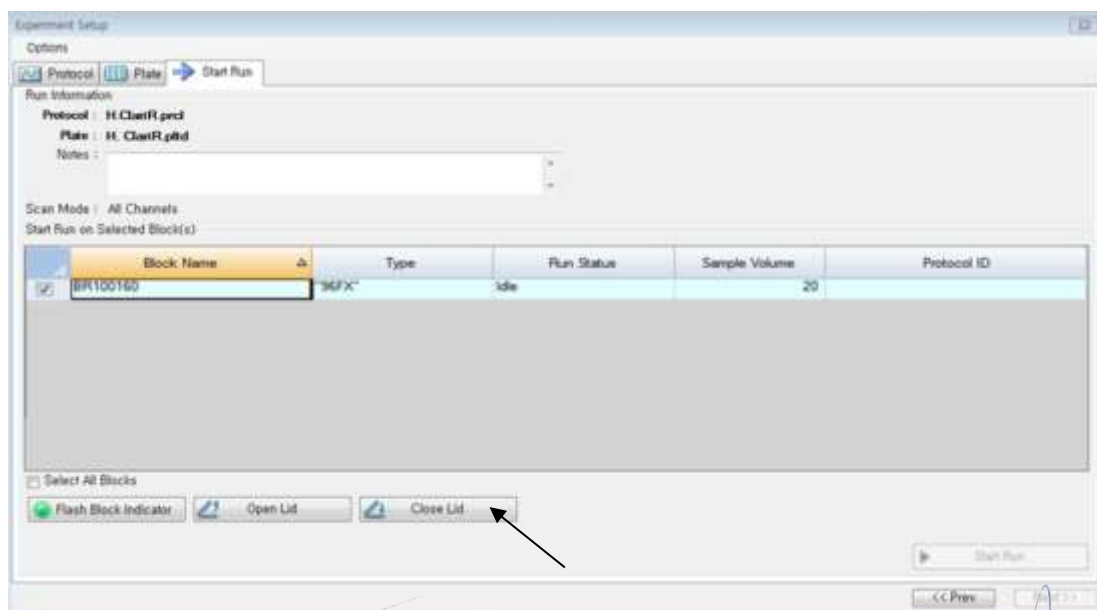


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

1.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Cree una carpeta para guardar los datos de todos los pasos de detección de las curvas de amplificación a partir del archivo de resultados.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep3" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

B. Configuración previa para el análisis CFX Manager™

1) Después del test, haga clic en la pestaña Quantitation (Cuantificación) para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

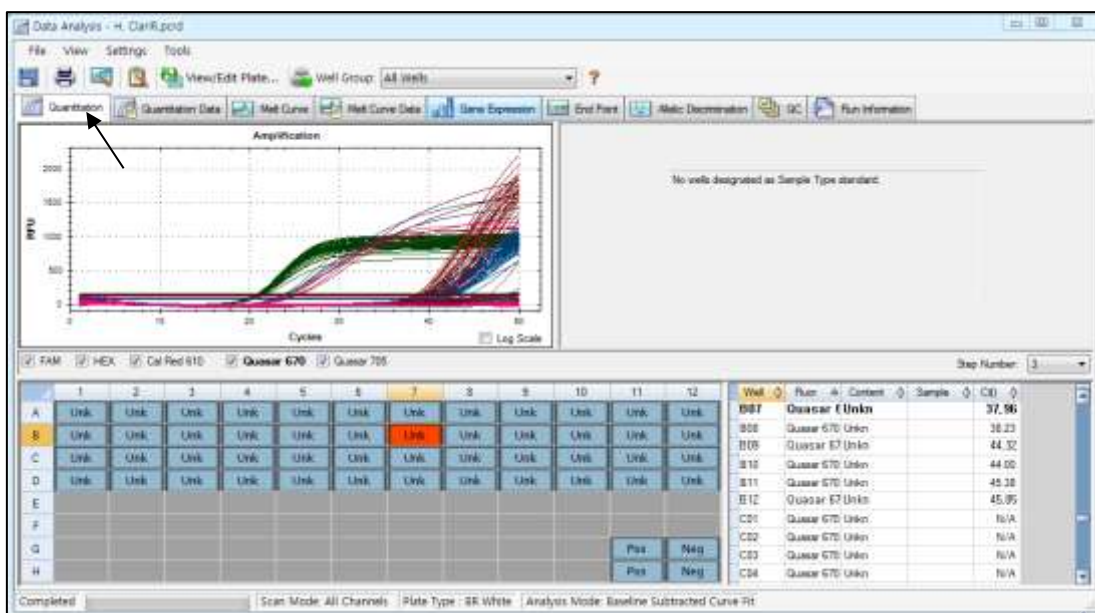


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17588

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el **Analysis Mode (Modo Análisis)** del menú **Settings (Configuración)**.

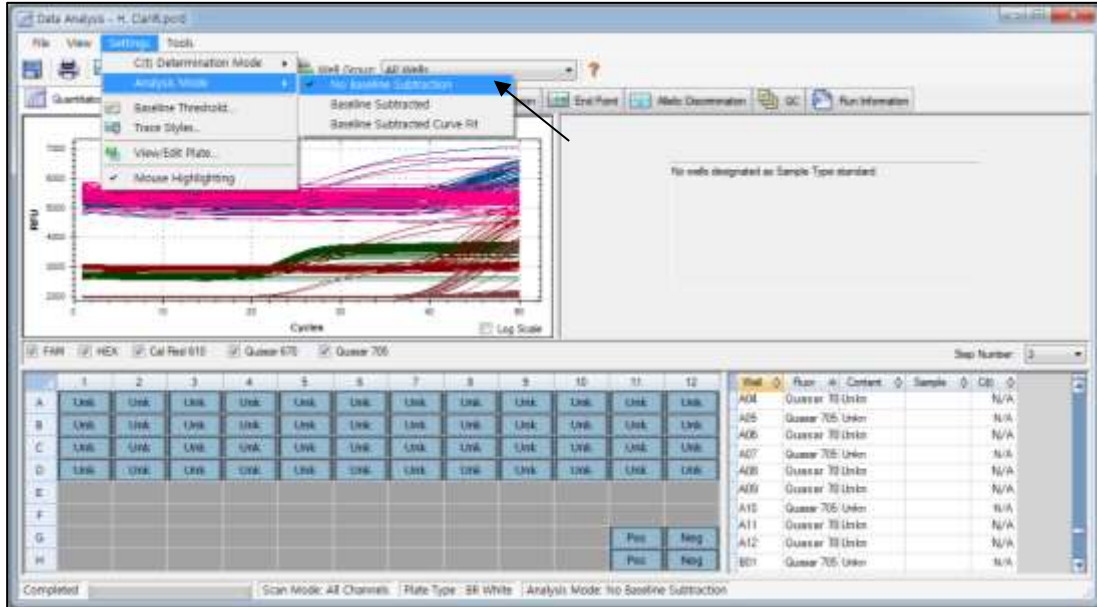


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)**

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación de Seegene)** en el menú **Tools (Herramientas)**.

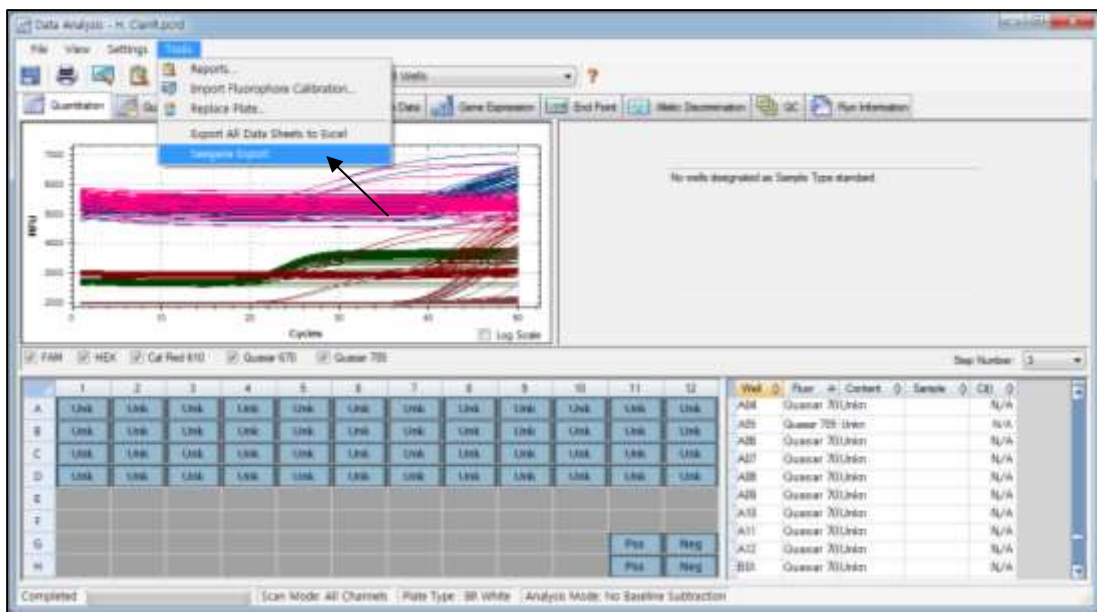


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

Eduardo Omar Miguez
 Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Marina Vila Perez
 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.



Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

C. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option (Opción)** para seleccionar **CFX96** en el **Instrument (Instrumento)**.

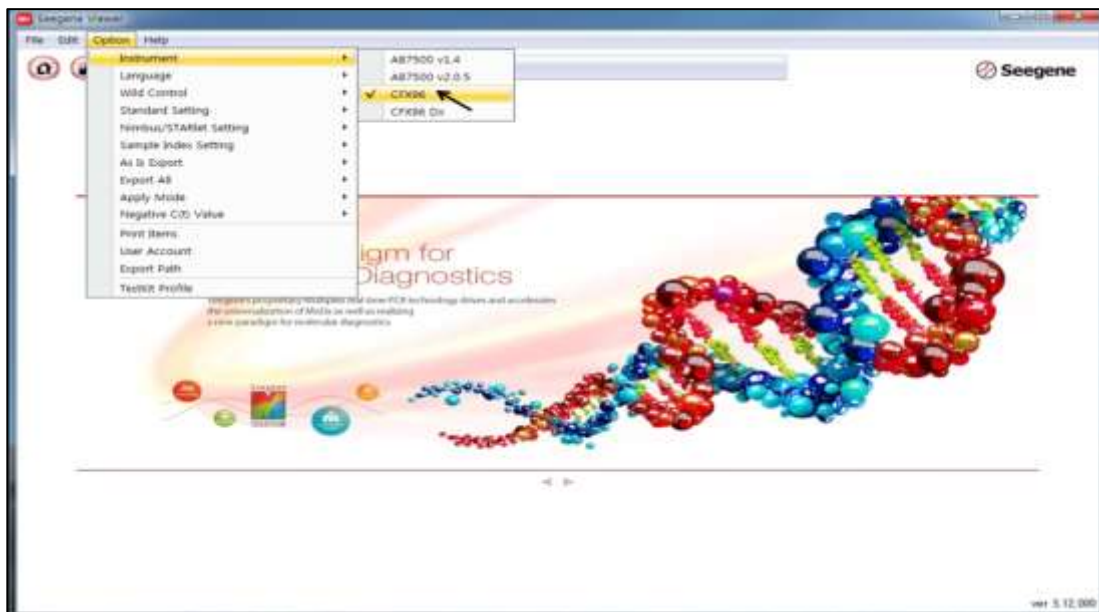


Fig. 13. Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- 2) Haga clic en **Open (Abrir)** para encontrar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep3", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

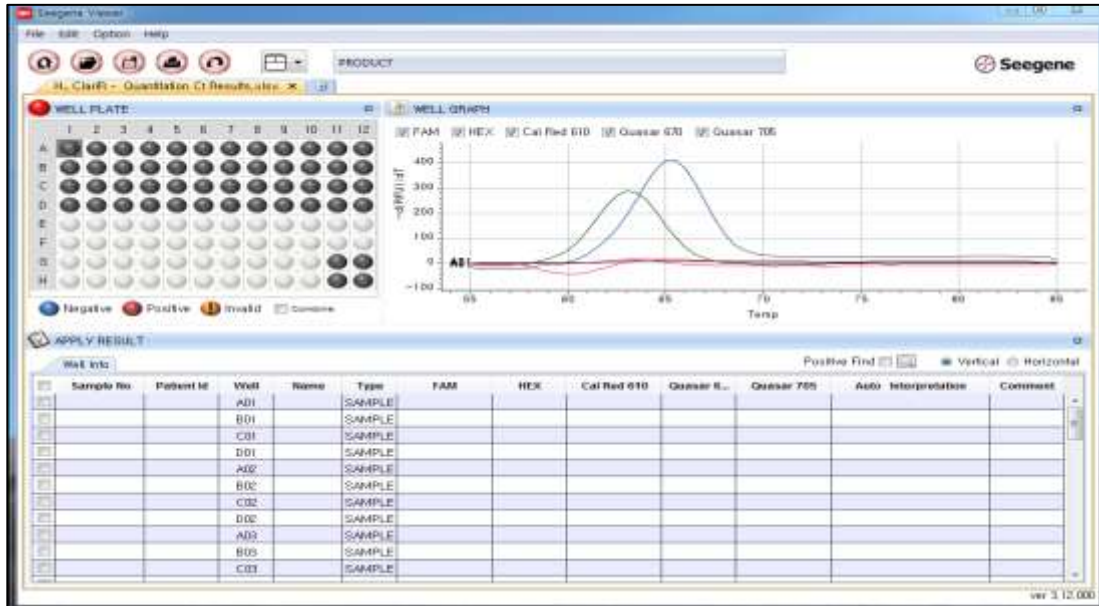


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

- 3) Compruebe el resultado de cada pocillo.



Fig. 15. Resultado del test en Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.


4) Criterios de validación de los resultados del control
a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez del experimento, la reacción de PCR incluye PC (Control Positivo) y NC (Control Negativo). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

| Control | Resultado de Seegene Viewer | | | | | Interpretación automática |
|------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | FAM (C _t) | HEX (C _t) | Cal Red 610 (C _t) | Quasar 670 (C _t) | Quasar 705 (C _t) | |
| | HP | IC | A2143G | A2142G | A2142C | |
| Control Positivo | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | Control Positivo(+) |
| Control Negativo | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A | Control Negativo(-) |

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos en los que no se consiga la validación, los resultados de la muestra no se deben interpretar ni notificar, y se deberá llevar a cabo el ciclo de nuevo.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARIANNA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)

2.1. Configuración de los instrumentos de PCR en tiempo real

Nota: La configuración del experimento en el CFX96™ Dx System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start Run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

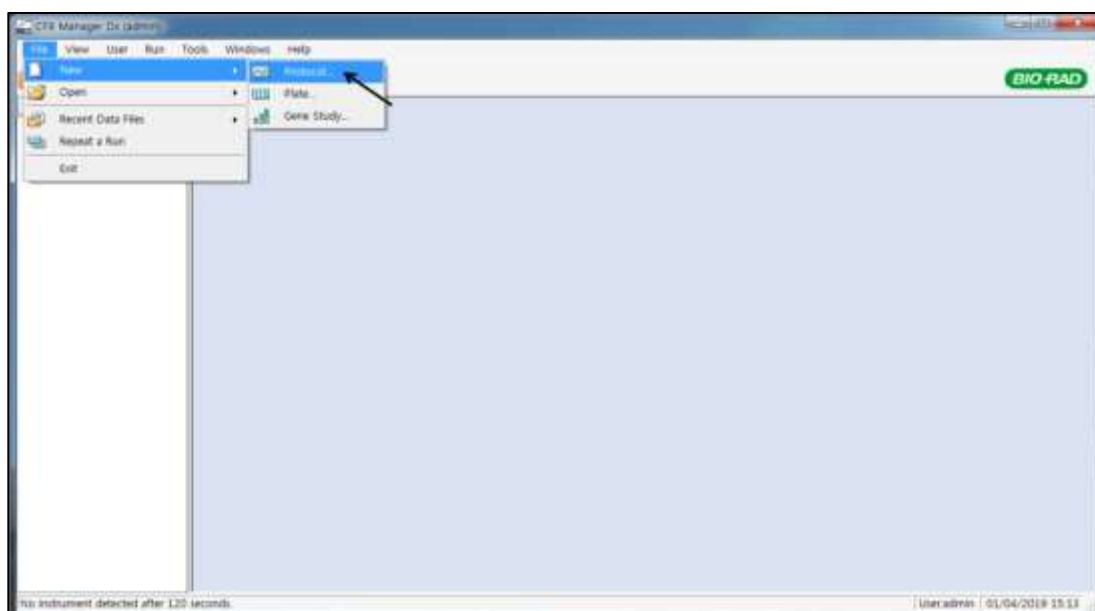


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

| Paso | No. de ciclos | Temp. | Duración |
|------|----------------------------|-------|----------|
| 1 | 1 | 95°C | 15 min |
| 2 | | 95°C | 10 seg |
| 3* | 50 | 60°C | 1 min |
| 4 | | 72°C | 10 seg |
| 5 | GOTO Paso 2, 49 veces más. | | |

Nota*: Lectura de placa en el paso 3. La fluorescencia se detecta a 60°C.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

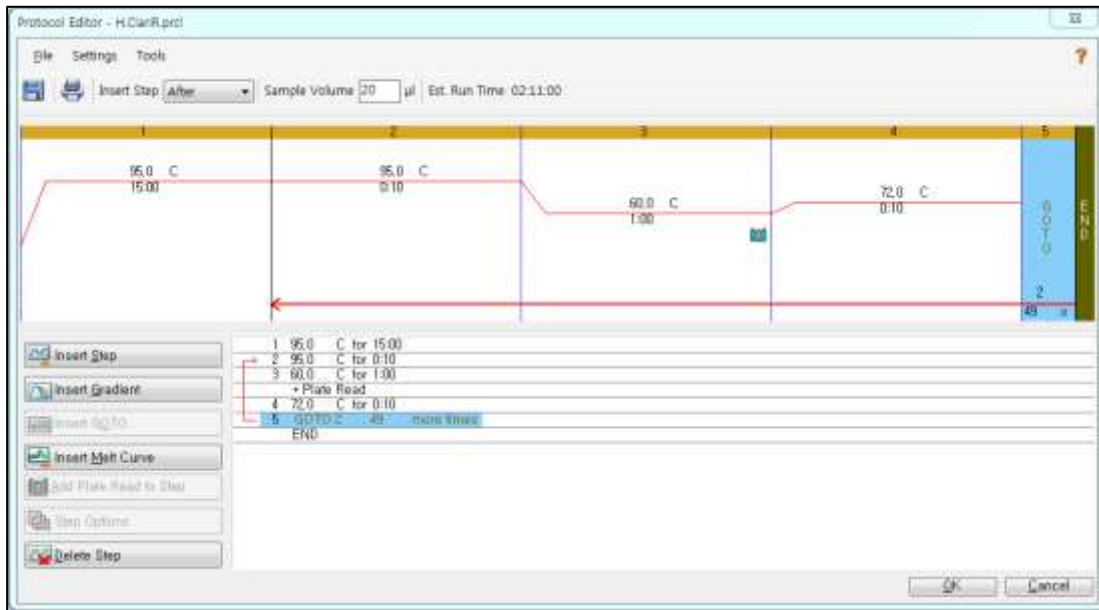


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

- 3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.
- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**.

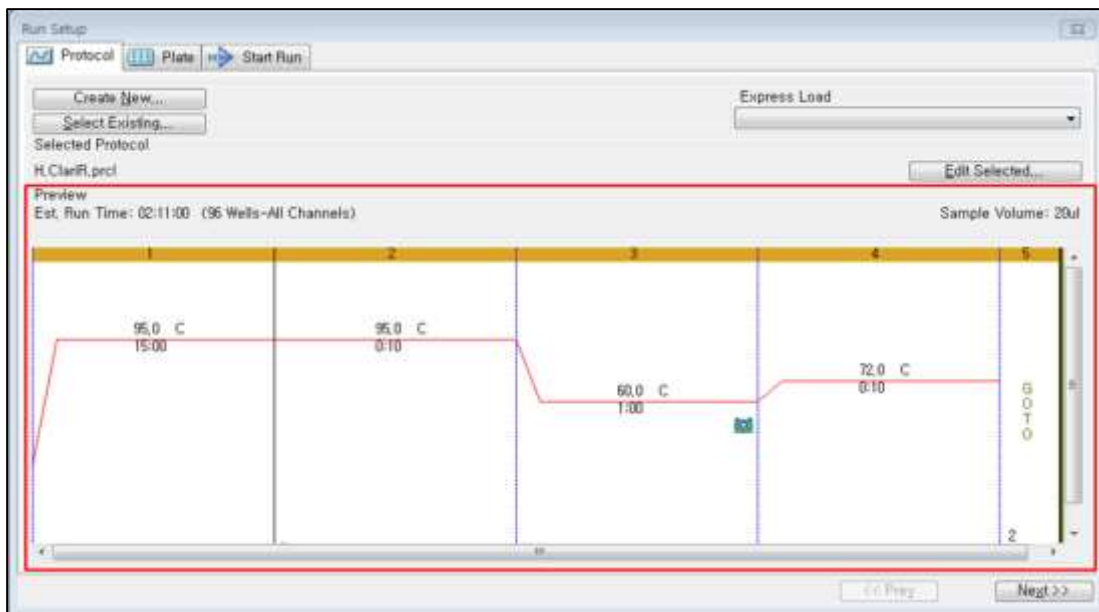


Fig. 3. Run Setup (Configuración del Ejecutar): Protocol (Protocolo)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.I. 12593

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

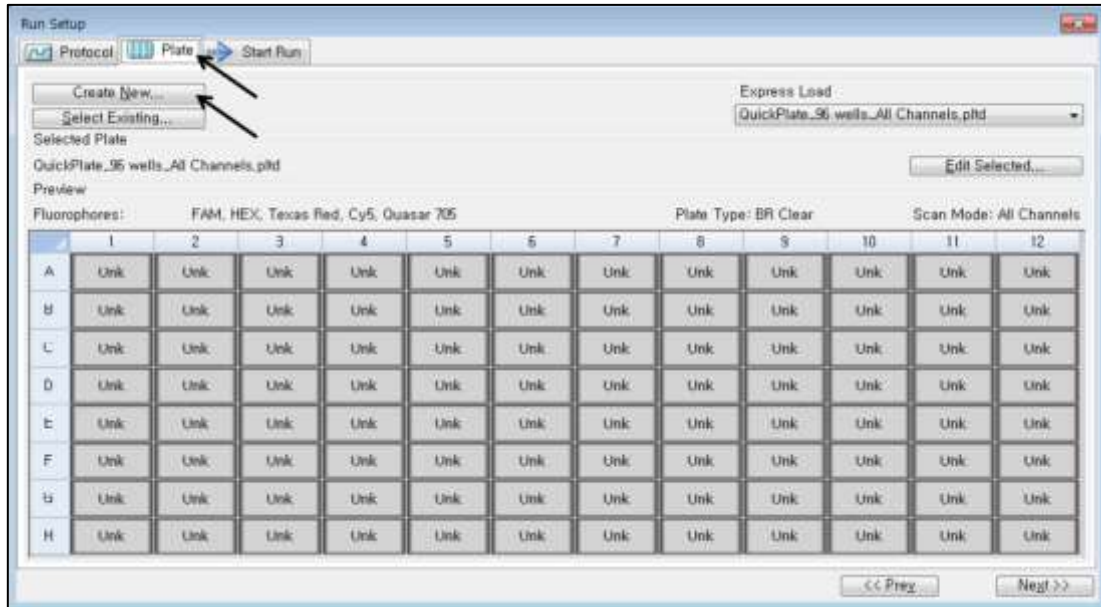


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placa)**

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

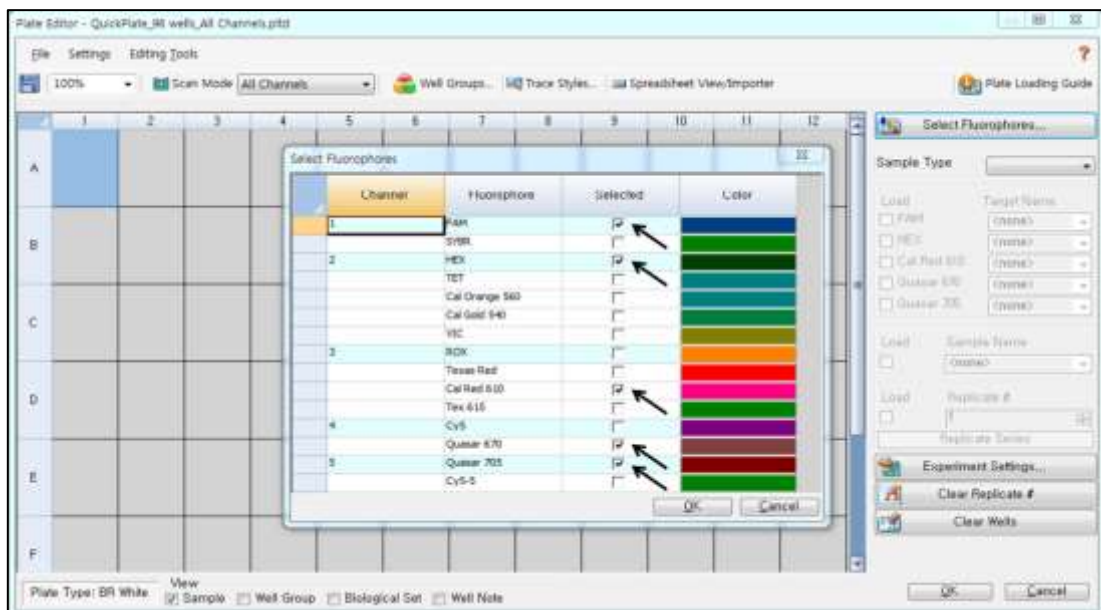


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos) (FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670, y Quasar 705)**

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Biólogo Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type (Tipo de Muestra)**.

- **Unknown (Desconocidos)**: muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

4) Haga clic en las casillas de verificación adecuadas (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y presione la tecla Intro.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

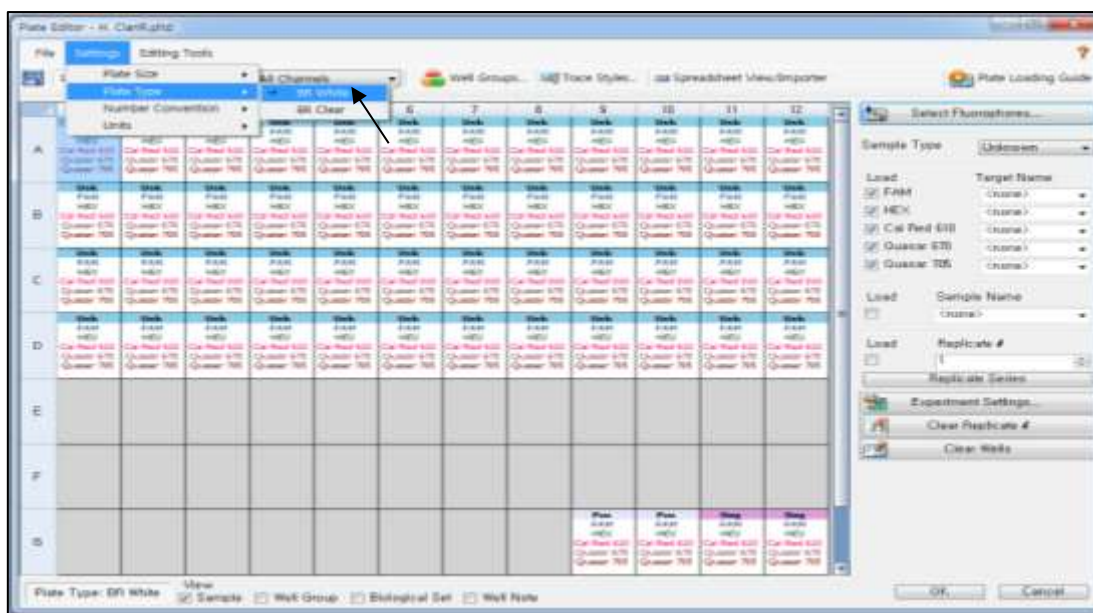


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

8) Regresará a la ventana **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**.

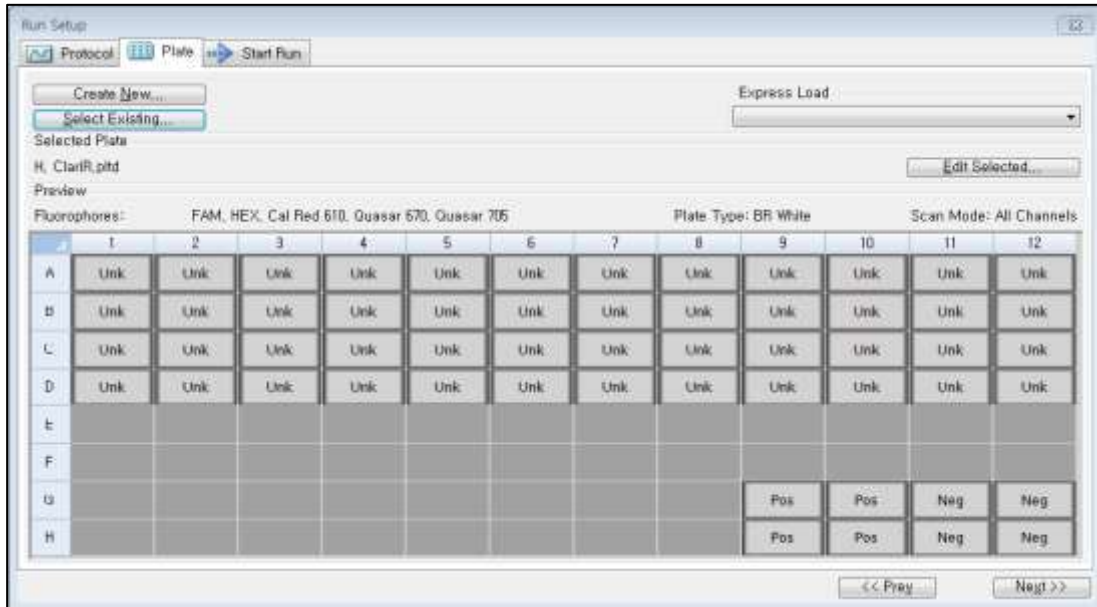


Fig. 7. **Run Setup (Configuración del Ejecutar): Plate (Placa)**

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

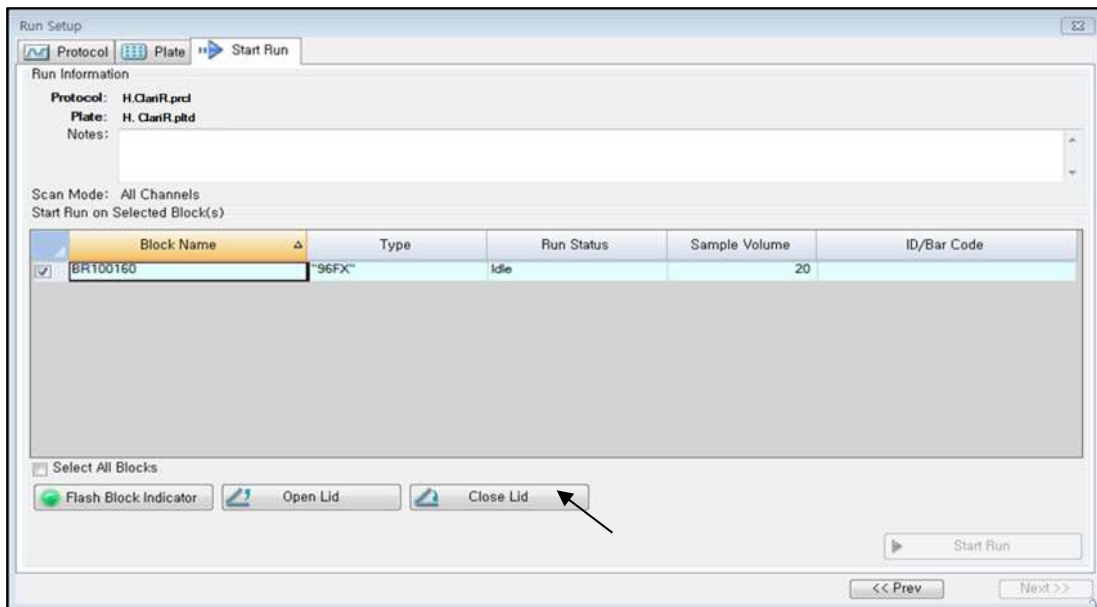


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

1.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Cree una carpeta para guardar los datos de todos los pasos de detección de las curvas de amplificación a partir del archivo de resultados.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep3" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

B. Configuración previa para el análisis CFX Manager™

1) Después del test, haga clic en la pestaña Quantitation (Cuantificación) para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

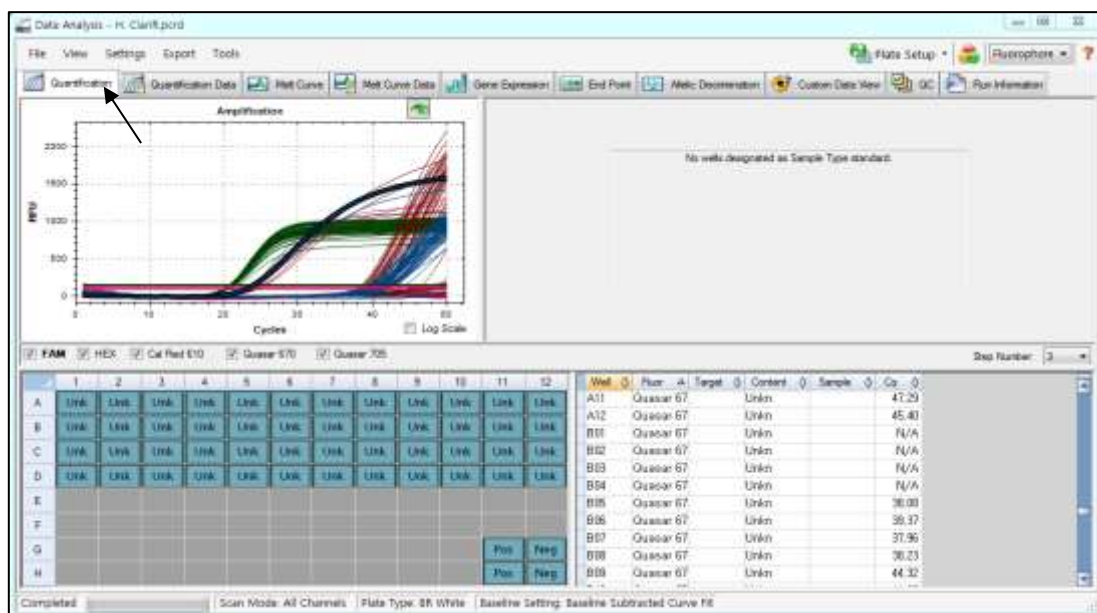


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- 2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el menú **Settings (Configuración)** de **Baseline Setting (Configuración de valor basal)**.

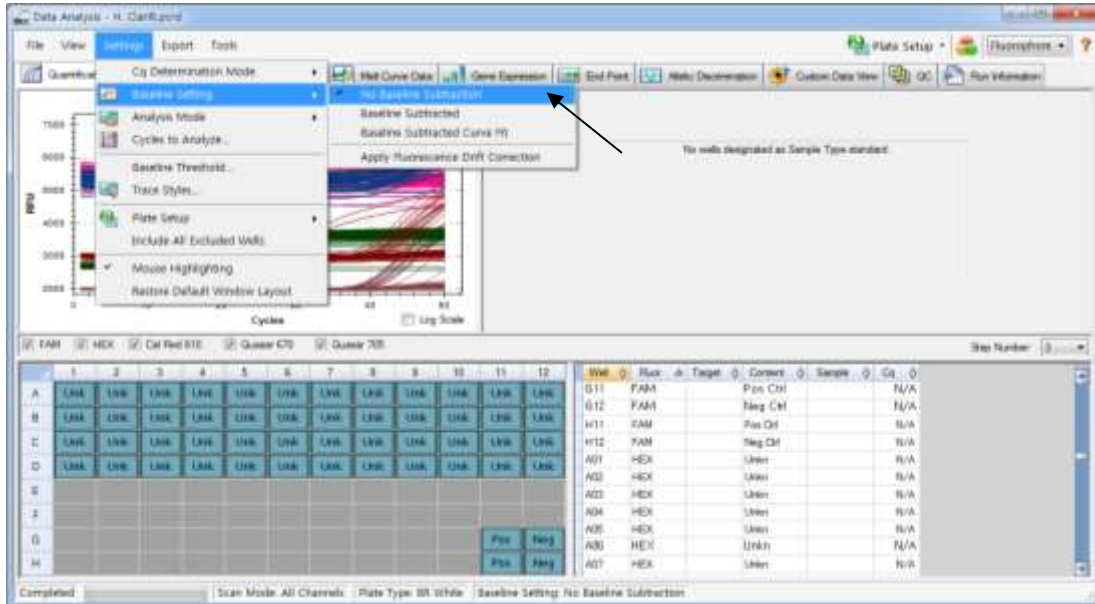


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)**

- 3) Seleccione **Seegene Export (Exportación de Seegene)** en el menú **Export (Exportación)**.

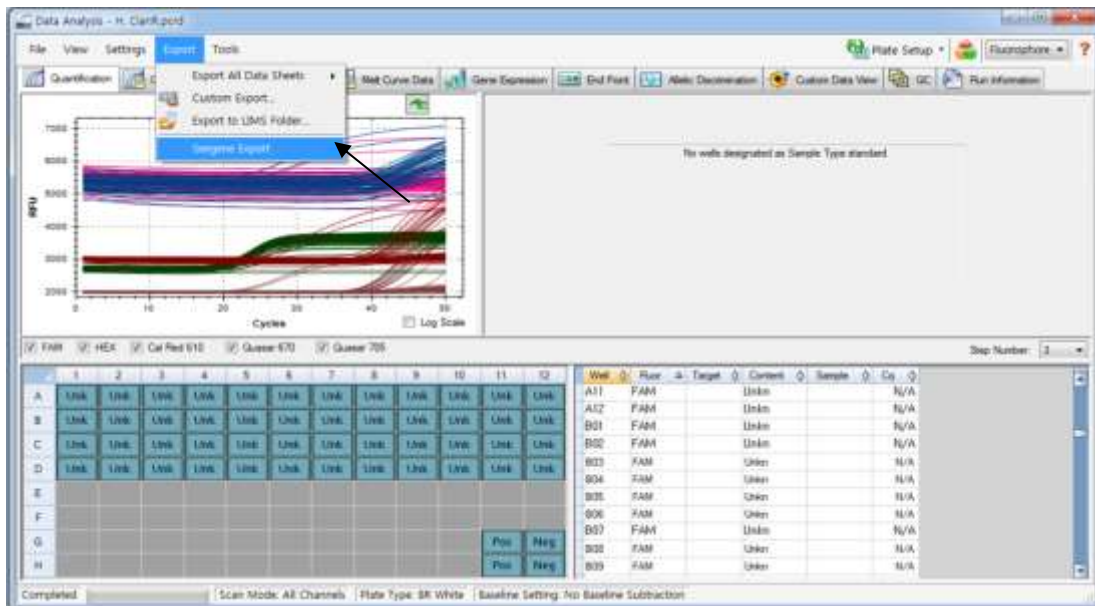


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

Eduardo Omar Miguez
 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

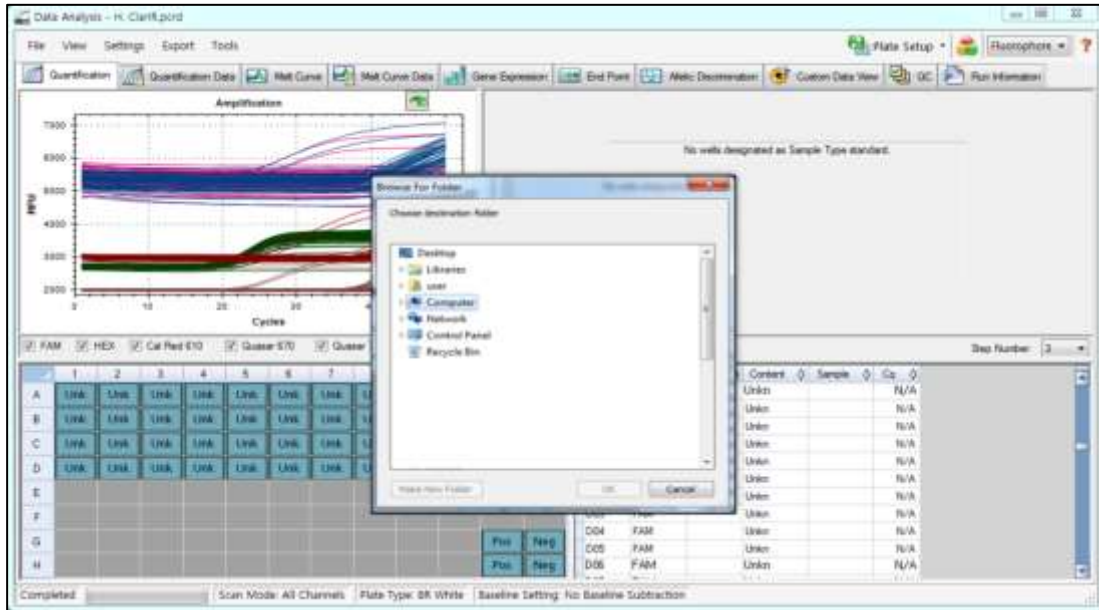


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

C. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option (Opción)** para seleccionar **CFX96 Dx** en el **Instrument (Instrumento)**.

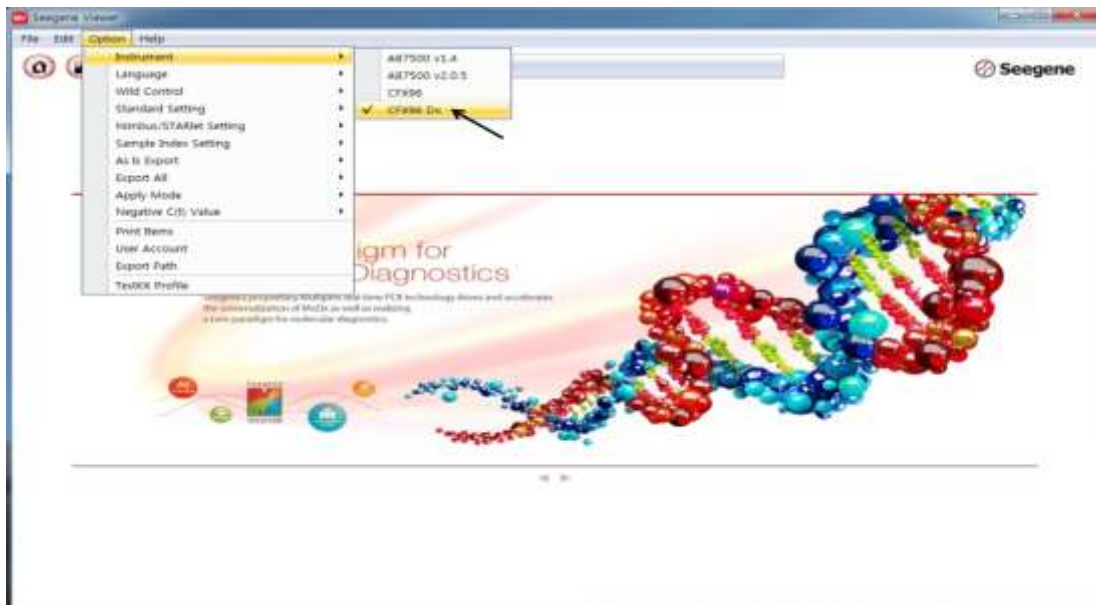


Fig. 13. Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para encontrar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep3", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

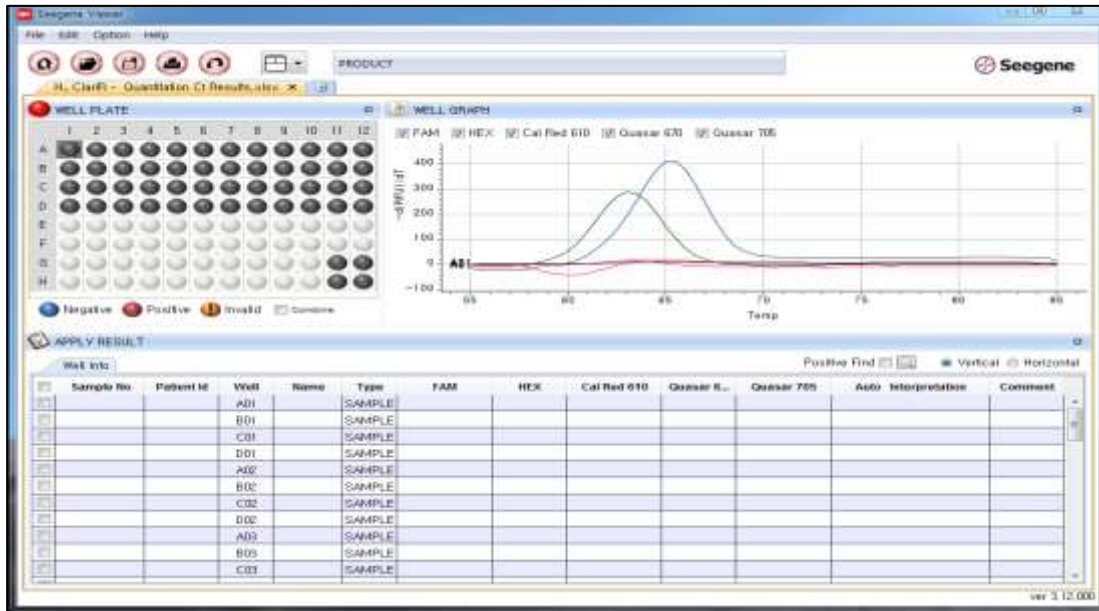


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.



Fig. 15. Resultado del test en Seegene Viewer

Firma: Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

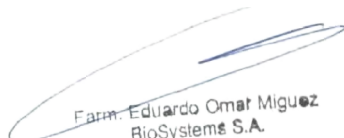
4) Criterios de validación de los resultados del control
a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez del experimento, la reacción de PCR incluye PC (Control Positivo) y NC (Control Negativo). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

| Control | Resultado de Seegene Viewer | | | | | Interpretación automática |
|------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | FAM (C _t) | HEX (C _t) | Cal Red 610 (C _t) | Quasar 670 (C _t) | Quasar 705 (C _t) | |
| | HP | IC | A2143G | A2142G | A2142C | |
| Control Positivo | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | Control Positivo(+) |
| Control Negativo | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A | Control Negativo(-) |

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos en los que no se consiga la validación, los resultados de la muestra no se deben interpretar ni notificar, y se deberá llevar a cabo el ciclo de nuevo.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



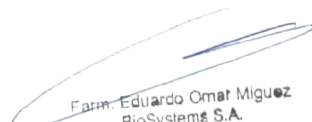
Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RESULTADOS**1. Información de los analitos**

| Fluoróforo | Analito |
|-------------|-----------------------|
| FAM | <i>H. pylori</i> (HP) |
| HEX | Control Interno (IC) |
| Cal Red 610 | A2143G |
| Quasar 670 | A2142G |
| Quasar 705 | A2142C |

2. Interpretación de los resultados

| Analito | Valor C _t | Resultado |
|-----------|----------------------|------------------|
| Objetivos | ≤ 50 | Detectado (+) |
| | N/A | No detectado (-) |
| IC | ≤ 50 | Detectado (+) |
| | N/A | No detectado (-) |



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

| Resultado IC | Resultado diana | | Interpretación |
|--------------|-----------------|------------------------|--|
| | <i>H.pylori</i> | Mutación del 23S rRNA* | |
| + | + | + | <i>H. pylori</i> y mutación del 23S rRNA detectado |
| | + | - | <i>H. pylori</i> detectado |
| | - | + | No válido ¹⁾ |
| | - | - | Ácido nucleico diana, no detectado |
| - | + | + | <i>H. pylori</i> y mutación del 23S rRNA detectado |
| | + | - | <i>H. pylori</i> detectado ²⁾ |
| | - | + | No válido ¹⁾ |
| | - | - | No válido ³⁾ |


* La mutación del 23S rRNA incluye 2143G, 2142G y 2142C.

¹⁾ La repetición de la prueba se debe realizar con ácido nucleico original. Si se obtiene el mismo resultado, consulte los resultados de otros métodos de diagnóstico.

²⁾ *H. pylori* detectado. Pero se debe volver a realizar la prueba para confirmar la mutación del *H. pylori* resistente a la claritromicina. Si se obtiene el mismo resultado, intérprete como "*H. pylori* detectado".

³⁾ Para la **muestra de biopsia gástrica**, los resultados sugieren una recolección inadecuada de la muestra, el procesamiento o la presencia de inhibidores. La nueva prueba debe realizarse con ácido nucleico original diluido 1/10~1/100. Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico diluido, repita la prueba de extracción de ácido nucleico utilizando otra alícuota de la muestra original.

Para **muestras de heces humanas** los resultados sugieren procesos inadecuados (es decir, sin adición de IC exógeno) o presencia de inhibidores. Repita la prueba de la extracción de ácido nucleico utilizando otra alícuota de la muestra original. Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico re-extraído, diluya (1/3~1/10) la muestra en tampón salino y repita la prueba de la extracción.



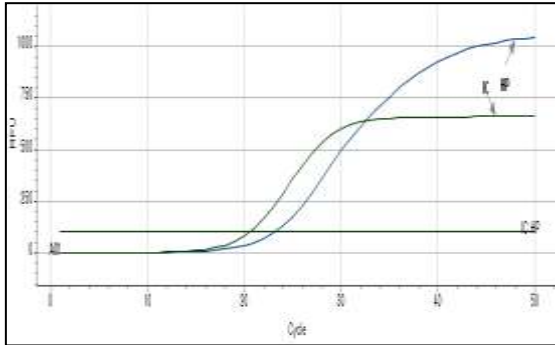
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



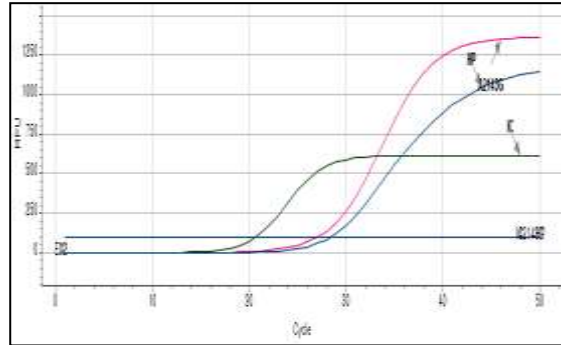
Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

3. Aplicación a muestras clínicas

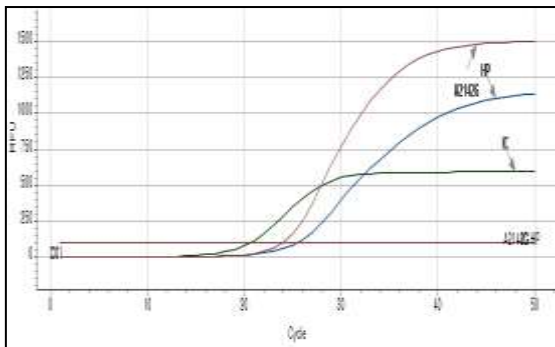
Muestra 1



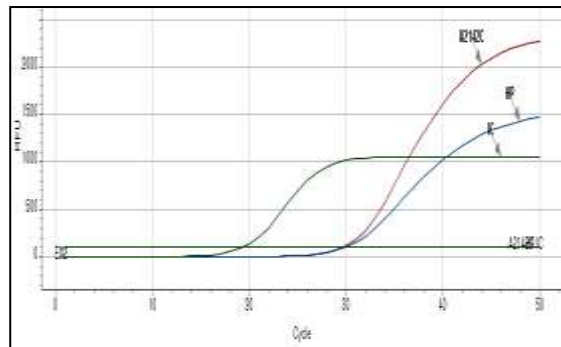
Muestra 2




Muestra 3



Muestra 4



| Muestra | FAM | | Cal Red 610 | | Quasar 670 | | Quasar 705 | | HEX | | Interpretación automática |
|---------|-----|-------|-------------|-------|------------|-------|------------|-------|-----|-------|---------------------------|
| | HP | C(t) | A2143G | C(t) | A2142G | C(t) | A2142C | C(t) | IC | C(t) | |
| 1 | + | 23,16 | - | N/A | - | N/A | - | N/A | + | 20,59 | HP |
| 2 | + | 28,47 | + | 27,13 | - | N/A | - | N/A | + | 20,73 | HP, A2143G |
| 3 | + | 25,51 | - | N/A | + | 24,01 | - | N/A | + | 20,68 | HP, A2142G |
| 4 | + | 29,99 | - | N/A | - | N/A | + | 29,73 | + | 19,38 | HP, A2142C |


 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

| Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | | |
|---|---|--|
| OBSERVACIONES | POSIBLES CAUSAS | SOLUCIÓN |
| No se observa señal | Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo. | Seleccionar los fluoróforos correctos para el análisis de datos. |
| | Configuración incorrecta del termociclador en tiempo real | Compruebe las condiciones del ciclo térmico y repita el test con la configuración adecuada. |
| | Almacenamiento incorrecto o posterior a la fecha de caducidad del kit del test. | Compruebe las condiciones de almacenamiento (véase página 11) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit del test y use un nuevo kit si fuese necesario. |
| | Fallo en la extracción de ácido nucleico | Si se añadió el IC a la muestra antes de la extracción, la ausencia de señal de IC puede indicar una pérdida de ácido nucleico durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado. Si es debido a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra original (Biopsia gástrica, Heces humanas) o puede diluir la muestra en un tampón de solución salina 1/3~1/10 veces y luego añadir H.ClariR IC a la muestra diluida. |
| No se observa señal de Control Interno | Alta carga de ácido nucleico del patógeno | Si se observa la señal del patógeno diana, pero no la del IC, entonces la amplificación del IC pudo haberse inhibido por una alta carga del patógeno objetivo. Para confirmar la señal del IC, diluya la muestra (Biopsia gástrica, 1/10~1/100) en agua esterilizada o diluir la muestra (Heces humanas, 1/3~1/10) en un tampón de solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción. |
| | Presencia de inhibidor PCR | Vuelva a extraer la muestra original (biopsia gástrica) o dilúyala (heces humanas, 1/3~1/10) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción. |

| Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | | |
|--|--|---|
| OBSERVACIONES | POSIBLES CAUSAS | SOLUCIÓN |
| Se observan supuestos falsos positivos o señales diana en el Control Negativo | Contaminación | Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Use solo puntas de filtro durante el procedimiento y cámbielas entre cada tubo. Repita el procedimiento entero desde la extracción de ácido nucleico con el nuevo conjunto de reactivos. |
| No se observan señales o supuestos falsos negativos en el Control Positivo | Error en la recogida de muestras | Compruebe el método de recogida de la muestra y vuelva a recogerla. |
| | Almacenamiento incorrecto de la muestra | Vuelva a recoger la muestra y repita el procedimiento entero. Asegúrese de que la muestra se almacena de la manera recomendada. |
| | Error en la extracción de ácido nucleico | Compruebe el procedimiento de extracción del ácido nucleico así como la concentración de ácido nucleico, y vuelva a extraerlo. |
| | Error al añadir ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes | Compruebe los números de muestra de los tubos que contienen el ácido nucleico y asegúrese de añadir ácido nucleico a los tubos de PCR adecuados. Repita cuidadosamente la prueba si fuese necesario. |
| | Presencia de inhibidor | Por favor, vuelva a extraer la muestra original (biopsia gástrica) o dilúyala (heces humanas, 1/3~1/10) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción. |
| | Mezcla de PCR incorrecta | Confirme que todos los componentes se añadan a la mezcla de PCR (la sensibilidad puede verse afectada por las premezclas anteriormente realizadas). Deben homogeneizarse todos los reactivos y centrifugarse antes de usar. |
| Picos en los ciclos de la curva de amplificación | Burbujas en el tubo de PCR | Centrifugue el tubo de PCR antes del inicio. |

RENDIMIENTO
1. Especificidad

Se probó la reactividad cruzada de Allplex™ H.pylori & ClariR Assay utilizando 184 materiales y organismos estándar, como se indica a continuación. Allplex™ H.pylori & ClariR Assay identificó dianas específicas, diseñadas para la detección.

| Núm | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|---|-------------------------|--------------|-----------------------------|
| 1 | <i>Helicobacter pylori</i> | ZMC | 804383 | <i>H. pylori</i> |
| 2 | <i>Helicobacter pylori</i> -2143G | Recombinant plasmid DNA | | <i>H.pylori</i> , A2143G |
| 3 | <i>Helicobacter pylori</i> -2142G | Recombinant plasmid DNA | | <i>H.pylori</i> , A2142G |
| 4 | <i>Helicobacter pylori</i> -2142C | Recombinant plasmid DNA | | <i>H.pylori</i> , A2142C |
| 5 | <i>Campylobacter coli</i> | KCTC | 15212 | No detectado |
| 6 | <i>Campylobacter fetus subsp. fetus</i> | ATCC | 27374 | No detectado |
| 7 | <i>Campylobacter jejuni</i> | KCTC | 5327 | No detectado |
| 8 | <i>Campylobacter lari</i> | ATCC | 35223 | No detectado |
| 9 | <i>Candida albicans</i> | KCCM | 11282 | No detectado |
| 10 | <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC | 11700 | No detectado |
| 11 | <i>Escherichia coli</i> | KCCM | 11591 | No detectado |
| 12 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | KCCM | 40890 | No detectado |
| 13 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | KCCM | 11328 | No detectado |
| 14 | <i>Staphylococcus aureus</i> | KCTC | 1621 | No detectado |
| 15 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | KCCM | 35494 | No detectado |
| 16 | <i>Helicobacter canadensis</i> | ATCC | 700968 | No detectado |
| 17 | <i>Helicobacter cinaedi</i> | ATCC | BAA-76 | No detectado |
| 18 | <i>Helicobacter felis</i> | ATCC | 49179 | No detectado |
| 19 | <i>Helicobacter fennelliae</i> | ATCC | 35684 | No detectado |
| 20 | <i>Helicobacter hepaticus</i> | ATCC | 51449 | No detectado |
| 21 | <i>Proteus mirabilis</i> | KCTC | 2510 | No detectado |
| 22 | <i>Proteus vulgaris</i> | KCCM | 40211 | No detectado |
| 23 | Adenovirus 40 | ATCC | VR931 | No detectado |
| 24 | Adenovirus 41 | KCTC | VR930 | No detectado |
| 25 | Adenovirus type 1 | QCMD | ADV13-03 | No detectado |
| 26 | Adenovirus type 18 | ATCC | VR-1095 | No detectado |

Firm: Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

| Núm | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|---|--------|--------------|--------------|
| 27 | Adenovirus type 23 | ATCC | VR-1101 | No detectado |
| 28 | Adenovirus type 4 | QCMD | ADV13-09 | No detectado |
| 29 | Adenovirus type 5 | QCMD | ADV13-08 | No detectado |
| 30 | Adenovirus type 8 | ATCC | VR-1368 | No detectado |
| 31 | Adenovirus type1 Adenoid 71 | ATCC | VR-1 | No detectado |
| 32 | Adenovirus type 14 | QCMD | ADV13-04 | No detectado |
| 33 | <i>Aeromonas caviae</i> | ATCC | 15468 | No detectado |
| 34 | <i>Aeromonas hydrophila</i> (ATCC 7966) | KCTC | 2358 | No detectado |
| 35 | <i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>masoucida</i> (ATCC 27013) | KCCM | 40239 | No detectado |
| 36 | <i>Aeromonas veronii</i> bv <i>sobria</i> | ATCC | 9071 | No detectado |
| 37 | <i>Aeromonas veronii</i> bv <i>veronii</i> | ATCC | 35623 | No detectado |
| 38 | <i>Alcaligenes faecalis</i> (ATCC 8750) | KCTC | 2678 | No detectado |
| 39 | <i>Astrovirus</i> | QCMD | GastroV13-03 | No detectado |
| 40 | <i>Atopobium vaginae</i> | ATCC | BAA-55 | No detectado |
| 41 | <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 9634) | KCTC | 1012 | No detectado |
| 42 | <i>Bacteroides fragilis</i> | ZMC | 306850 | No detectado |
| 43 | <i>Bacteroides uniformis</i> (ATCC 8492) | KCTC | 5204 | No detectado |
| 44 | <i>Bifidobacterium adolescentis</i> (ATCC 15703) | KCCM | 11206 | No detectado |
| 45 | <i>Bifidobacterium longum</i> (ATCC 15707) | KCCM | 11953 | No detectado |
| 46 | <i>Campylobacter coli</i> (ATCC 33559) | KCTC | 15212 | No detectado |
| 47 | <i>Campylobacter curvus</i> (ATCC 35224) | KCTC | 15196 | No detectado |
| 48 | <i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i> (ATCC 35217) | KCTC | 15207 | No detectado |
| 49 | <i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> (ATCC 33560) | KCTC | 5327 | No detectado |
| 50 | <i>Campylobacter rectus</i> | KCTC | 5636 | No detectado |
| 51 | <i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>sputorum</i> (ATCC 35980) | KCTC | 15215 | No detectado |
| 52 | <i>Campylobacter upsaliensis</i> (ATCC 43954) | KCTC | 15213 | No detectado |
| 53 | <i>Candida albicans</i> | ZMC | 309980 | No detectado |
| 54 | <i>Candida glabrata</i> | ATCC | 36909D | No detectado |
| 55 | <i>Candida guilliemondii</i> Z008 | ZMC | 306660 | No detectado |
| 56 | <i>Candida krusei</i> | ATCC | 200339D | No detectado |
| 57 | <i>Candida lusitaniae</i> Z010 | ZMC | 306661 | No detectado |
| 58 | <i>Candida parapsilosis</i> Z011 | ZMC | 306945 | No detectado |
| 59 | <i>Candida tropicalis</i> Z012 | ZMC | 306932 | No detectado |

| Núm | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|--|--------|--------------|--------------|
| 60 | <i>Chlamydia trachomatis</i> | ATCC | VR-902B | No detectado |
| 61 | <i>Clostridium acetobutylicum</i> (ATCC 4259) | KCTC | 1037 | No detectado |
| 62 | <i>Clostridium baratii</i> (ATCC 27638) | KCTC | 5131 | No detectado |
| 63 | <i>Clostridium beijerinckii</i> (ATCC 8260) | KCTC | 2203 | No detectado |
| 64 | <i>Clostridium bifermentans</i> | KCTC | 5393 | No detectado |
| 65 | <i>Clostridium chauvoei</i> (ATCC 10092) | KCTC | 5571 | No detectado |
| 66 | <i>Clostridium difficile</i> (non-toxigenic) | ATCC | 43593 | No detectado |
| 67 | <i>Clostridium difficile</i> NAP1 | ATCC | BAA-1805 | No detectado |
| 68 | <i>Clostridium ghonii</i> | KCTC | 5329 | No detectado |
| 69 | <i>Clostridium innocuum</i> (ATCC 14501) | KCTC | 5183 | No detectado |
| 70 | <i>Clostridium nexile</i> (ATCC 27757) | KCTC | 5578 | No detectado |
| 71 | <i>Clostridium paraputrificum</i> (ATCC 25780) | KCTC | 5331 | No detectado |
| 72 | <i>Clostridium septicum</i> | KCTC | 5695 | No detectado |
| 73 | <i>Clostridium sphenoides</i> (ATCC 19403) | KCTC | 5653 | No detectado |
| 74 | <i>Cryptosporidium muris</i> | ATCC | 87666 | No detectado |
| 75 | Cytomegalovirus (AD169) | NIBSC | 09/162 | No detectado |
| 76 | <i>Entamoeba dispar</i> | ATCC | PRA-260 | No detectado |
| 77 | <i>Enterococcus avium</i> | KCTC | 5190 | No detectado |
| 78 | <i>Enterococcus casseliflavus</i> | KCCM | 40712 | No detectado |
| 79 | <i>Enterococcus durans</i> (ATCC 19432) | KCCM | 40711 | No detectado |
| 80 | <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC | 51299 | No detectado |
| 81 | <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC | 51559 | No detectado |
| 82 | <i>Enterococcus gallinarum</i> | ATCC | BAA-748 | No detectado |
| 83 | <i>Enterococcus hirae</i> (ATCC 8043) | KCCM | 12216 | No detectado |
| 84 | Enterovirus (Type 71) | ZMC | 308539 | No detectado |
| 85 | Epstein-Barr virus (B95-8 strain) | ZMC | 309068 | No detectado |
| 86 | <i>Escherichia coli</i> | KCCM | 11591 | No detectado |
| 87 | <i>Escherichia coli</i> O:H48 | KCCM | 41957 | No detectado |
| 88 | <i>Escherichia coli</i> O1:K1:H7 (ATCC 11775) | KCCM | 12451 | No detectado |
| 89 | <i>Escherichia coli</i> O157 | NCCP | 11142 | No detectado |

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.


| Núm | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|---|--------|--------------|--------------|
| 90 | <i>Escherichia coli</i> O55:K59(B5):H- (ATCC 12014) | KCCM | 41290 | No detectado |
| 91 | <i>Escherichia coli</i> O6:H1 (ATCC 25922) | KCCM | 11234 | No detectado |
| 92 | <i>Escherichia coli</i> O78:K80:H12 (ATCC 43896) | KCCM | 40405 | No detectado |
| 93 | <i>Escherichia hermannii</i> (ATCC 33650) | KCTC | 22526 | No detectado |
| 94 | <i>Gardnerella vaginalis</i> | ATCC | 14018 | No detectado |
| 95 | <i>Hepatitis A virus (HAV)</i> | ATCC | VR-1402 | No detectado |
| 96 | <i>Hepatitis B virus-a (HBV genotype a)</i> | BBI | PHD350-05 | No detectado |
| 97 | <i>Hepatitis B virus-b (HBV genotype b)</i> | BBI | PHD350-14 | No detectado |
| 98 | <i>Hepatitis B virus-c (HBV genotype c)</i> | BBI | PHD350-04 | No detectado |
| 99 | <i>Hepatitis C virus (HCV)</i> | BBI | A306-6515 | No detectado |
| 100 | <i>HSV-1 (Macintyre; VR-539)</i> | ZMC | 308202 | No detectado |
| 101 | <i>HSV-2 (MS; VR-540)</i> | ZMC | 308203 | No detectado |
| 102 | Human Herpes 6B virus (Z29 strain) | ZMC | 309266 | No detectado |
| 103 | Human Herpes 7 virus (SB strain) | ZMC | 306938 | No detectado |
| 104 | Human Papilloma virus-16 (Caski) | QCMD | HPV12-07 | No detectado |
| 105 | Human Papilloma virus-18 (Hela) | QCMD | HPV12-08 | No detectado |
| 106 | <i>Klebsiella oxytoca</i> | ATCC | 700324D | No detectado |
| 107 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 15380) | KCTC | 2952 | No detectado |
| 108 | <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356) | KCCM | 32820 | No detectado |
| 109 | <i>Lactobacillus casei</i> (ATCC 393) | KCCM | 12452 | No detectado |
| 110 | <i>Lactobacillus crispatus</i> | ATCC | 25258 | No detectado |
| 111 | <i>Lactobacillus gasseri</i> | ATCC | 33323 | No detectado |
| 112 | <i>Lactobacillus jensenii</i> | ATCC | 33820 | No detectado |
| 113 | <i>Lactobacillus reuteri</i> (ATCC 23272) | KCCM | 40717 | No detectado |
| 114 | <i>Mobiluncus curtisii</i> | ATCC | 35241 | No detectado |
| 115 | <i>Mycoplasma genitalium</i> | ATCC | 33530D | No detectado |
| 116 | <i>Mycoplasma hominis</i> (ATCC 23114) | ZMC | 307435 | No detectado |
| 117 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | ZMC | 305345 | No detectado |
| 118 | <i>Neisseria meningitidis</i> | ATCC | 700532D | No detectado |
| 119 | Norovirus-GI | ATCC | VR-3199SD | No detectado |
| 120 | Norovirus-GII | ATCC | VR-3200SD | No detectado |
| 121 | Norovirus-GI.3 | QCMD | NV13-06 | No detectado |
| 122 | Norovirus-GI.7 | QCMD | NV13-09 | No detectado |

Farm. Eduardo Cima Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARTINA VILA PEREZ
MODERADA
BioSystems S.A.

| Núm | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|---|-----------------|----------------|--------------|
| 123 | Norovirus-GI.8 | QCMD | NV13-12 | No detectado |
| 124 | Norovirus-GII.4 | QCMD | NV13-10 | No detectado |
| 125 | Norovirus-GII.b | QCMD | NV13-08 | No detectado |
| 126 | <i>Parabacteroides distasonis</i> (ATCC 8503) | KCTC | 5751 | No detectado |
| 127 | <i>Pentatrichomonas hominis</i> | ATCC | 30000 | No detectado |
| 128 | <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (ATCC 27337) | KCTC | 5182 | No detectado |
| 129 | Rotavirus | QCMD | GastroV13-06 | No detectado |
| 130 | Rotavirus G1P4 | WAVA | Rotavirus G1P4 | No detectado |
| 131 | Rotavirus G1P6 | WAVA | Rotavirus G1P6 | No detectado |
| 132 | Rotavirus G1P8 | WAVA | Rotavirus G1P8 | No detectado |
| 133 | Rotavirus G2P4 | WAVA | Rotavirus G2P4 | No detectado |
| 134 | Rotavirus G3P6 | WAVA | Rotavirus G3P6 | No detectado |
| 135 | Rotavirus G3P8 | WAVA | Rotavirus G3P8 | No detectado |
| 136 | Rotavirus G3P9 | WAVA | Rotavirus G3P9 | No detectado |
| 137 | Rotavirus G4P6 | WAVA | Rotavirus G4P6 | No detectado |
| 138 | Rotavirus G9P6 | WAVA | Rotavirus G9P6 | No detectado |
| 139 | Rotavirus G9P8 | WAVA | Rotavirus G9P8 | No detectado |
| 140 | Rubella virus | ZMC | 306675 | No detectado |
| 141 | <i>Salmonella bongori</i> (ATCC 43975) | KCCM | 41758 | No detectado |
| 142 | <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i> (ATCC 12324) | KCCM | 41575 | No detectado |
| 143 | <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi C | KCCM | 41577 | No detectado |
| 144 | <i>Salmonella enteritidis</i> (IFO 3313) | KCCM | 12021 | No detectado |
| 145 | <i>Salmonella houtenae</i> | KCTC | 12399 | No detectado |
| 146 | <i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 14028) | KCCM | 11806 | No detectado |
| 147 | Sapovirus G1 | Cultivo coreano | | No detectado |
| 148 | Sapovirus G2 | Cultivo coreano | | No detectado |
| 149 | Sapovirus G4 | Cultivo coreano | | No detectado |
| 150 | <i>Serratia marcescens</i> | ATCC | 14041 | No detectado |
| 151 | <i>Serratia marcescens</i> (ATCC 27117) | KCCM | 40105 | No detectado |
| 152 | <i>Shigella boydii</i> (ATCC 8700) | KCCM | 41649 | No detectado |
| 153 | <i>Shigella dysenteriae</i> | NCCP | 14746 | No detectado |
| 154 | <i>Shigella flexneri</i> (ATCC 11836) | KCCM | 11937 | No detectado |
| 155 | <i>Shigella sonnei</i> (ATCC 11060) | KCCM | 11903 | No detectado |

| Núm | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|--|--------|--------------|--------------|
| 156 | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> (ATCC 29970) | KCTC | 3341 | No detectado |
| 157 | <i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i> | KCTC | 3343 | No detectado |
| 158 | <i>Staphylococcus lugdunensis</i> | ATCC | 43809D | No detectado |
| 159 | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (ATCC 15305) | KCTC | 3345 | No detectado |
| 160 | <i>Streptococcus mitis</i> | ZMC | 306837 | No detectado |
| 161 | <i>Streptococcus mutans</i> Z072 | ZMC | 307290 | No detectado |
| 162 | <i>Streptococcus oralis</i> (ATCC 35037) | KCTC | 13048 | No detectado |
| 163 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> 19F | ZMC | 307676 | No detectado |
| 164 | <i>Streptococcus pyogenes</i> Rosenbach (ATCC 19615) | KCTC | 40411 | No detectado |
| 165 | <i>Toxoplasma gondii</i> | ZMC | 315153 | No detectado |
| 166 | <i>Trichomonas tenax</i> | ATCC | 30207 | No detectado |
| 167 | <i>Trichomonas vaginalis</i> (ATCC 30238) | ZMC | 309167 | No detectado |
| 168 | <i>Ureaplasma parvum</i> | ATCC | 27815 | No detectado |
| 169 | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | ATCC | 33695 | No detectado |
| 170 | <i>Varicella Zoster virus</i> | ZMC | 810168 | No detectado |
| 171 | <i>Vibrio albensis</i> (ATCC 14547) | KCTC | 12321 | No detectado |
| 172 | <i>Vibrio alginolyticus</i> (ATCC 17749) | KCCM | 40513 | No detectado |
| 173 | <i>Vibrio cholerae</i> Z132 | ZMC | 801901 | No detectado |
| 174 | <i>Vibrio cincinnatiensis</i> (ATCC 35912) | KCTC | 2733 | No detectado |
| 175 | <i>Vibrio fluvialis</i> (ATCC 33809) | KCCM | 40827 | No detectado |
| 176 | <i>Vibrio furnissii</i> (ATCC 35016) | KCCM | 41679 | No detectado |
| 177 | <i>Vibrio hollisae</i> (ATCC 33564) | KCCM | 41680 | No detectado |
| 178 | <i>Vibrio mediterranei</i> (ATCC 43341) | KCTC | 2735 | No detectado |
| 179 | <i>Vibrio mimicus</i> (ATCC 33653) | KCCM | 40826 | No detectado |
| 180 | <i>Vibrio nereis</i> (ATCC 25917) | KCTC | 2722 | No detectado |
| 181 | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (ATCC 17802) | KCCM | 11965 | No detectado |
| 182 | <i>Vibrio splendidus</i> (ATCC 33125) | KCTC | 12679 | No detectado |
| 183 | <i>Vibrio vulnificus</i> (ATCC 27562) | KCCM | 41665 | No detectado |
| 184 | <i>Yersinia enterocolitica</i> (ATCC 23715) | KCCM | 41657 | No detectado |


 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

† Los tests especificados se repitieron 3 veces.

- ※ ATCC: American Type Culture Collection
- BBI: BBI Solutions
- KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
- KCTC: Korean Collection for Type Culture
- NCCP: National Culture Collection for Pathogens
- NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control
- QCMD: Quality Control for Molecular Diagnostics
- WAVA: Waterborne Virus Bank
- ZMC: ZeptoMetrix Corporation

2. Sensibilidad


La sensibilidad se define como la concentración más baja de organismo que se puede detectar consistentemente ($\geq 95\%$ de los resultados positivos entre todas las muestras analizadas). Se confirmó cuando se obtuvieron los resultados correctos de organismo/ensayo de al menos 24 de las 24 muestras ($24/24 = 100\%$) evaluadas.

La sensibilidad de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay se determinó utilizando muestras adulteradas de DNA plasmídico diana (de 10^7 a 10^0 copias/reacción). El límite de detección para el Allplex™ H. pylori & ClariR Assay fue de 50 copias/reacción para *H. pylori* y 100 copias/reacción para la mutación del 23S rRNA (A2143G, A2142G y A2142C).

3. Repetibilidad

Se preparó el panel de repetibilidad de 13 miembros que contenía una muestra negativa y se prepararon 12 analitos simulados que incluían muestras de alto negativo (0,1X LoD), bajo positivo (1X LoD) y positivo moderado (3X LoD). El panel se probó durante veinte días, dos corridas por día por dos operadores diferentes con un solo lote y triplicado de cada panel por corrida desde una extracción. Se observaron las tasas positivas para cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,0% para muestras positivas moderadas, 100% para muestras positivas bajas y menos de 71,67% para muestras negativas altas.

Los resultados confirman los rendimientos repetibles del Allplex™ H. pylori & ClariR Assay.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Reproducibilidad

Se preparó el panel de reproducibilidad de 12 analitos simulados que incluía muestras muy negativas (0,1X LoD), poco positivas (1X LoD) y ligeramente positivas (3X LoD). En cada centro de pruebas se analizó el panel durante cinco días, dos operadores diferentes llevaron a cabo dos ciclos cada día y triplicaron el ciclo de cada panel a partir de una extracción. Se analizó con un único lote de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay en tres centros diferentes y con tres lotes en un centro interno. Se observaron tasas positivas de cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,0% de muestras ligeramente positivas, $\geq 100\%$ de muestras poco positivas y $\geq 86,67\%$ de muestras muy negativas.

Los resultados confirman los rendimientos reproducibles de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay.

5. Sustancias interferentes

Esta prueba se llevó a cabo usando sustancias interferentes compuestas por 13 sustancias para confirmar el rendimiento de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay en la presencia de potenciales sustancias interferentes. El resultado no se vio afectado al añadir las sustancias: ni detección no específica ni inhibición en la amplificación objetiva. Teniendo en cuenta los resultados, las 13 sustancias interferentes no afectaron los resultados de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay.


| Núm | Sustancias interferentes | Concentración |
|-----|---|------------------------|
| 1 | Amoxicillin | 206 $\mu\text{mol/L}$ |
| 2 | Barium sulfate | 5 mg/ml |
| 3 | Bilirubin | 342 $\mu\text{mol/L}$ |
| 4 | Bismuth Subsalicylate (pepto-Bismol) | 0,175 mg/ml |
| 5 | Cimetidine (Tagamet) | 79,2 $\mu\text{mol/L}$ |
| 6 | Clarithromycin | 26,7 $\mu\text{mol/L}$ |
| 7 | Hemoglobin human | 2 g/L |
| 8 | Metronidazole | 701 $\mu\text{mol/L}$ |
| 9 | Mucin (bovine submaxillary gland, type I-S) | 3 mg/ml |
| 10 | Omeprazole (prilosec OTC) | 17,4 $\mu\text{mol/L}$ |
| 11 | Palmitic Acid | 6 mmol/L |
| 12 | Stearic acid | 0,4 mmol/L |
| 13 | Triglyceride (Intralipid) | 37 mmol/L |

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REFERENCIAS

1. D. H. Lee. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] Seegene Bulletin. (2012) 1: 5-10
2. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] Seegene Bulletin. (2012) 1: 1-4
3. J. Y. Chun, K. J. Kim, I. T. Hwang, Y. J. Kim, D. H. Lee, I. K. Lee, and J. K. Kim. [Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene.] Nucleic Acids Research. (2007) 35: e40
4. Y. J. Lee, D. Y. Kim, K. H. Kim, and J. Y. Chun. [Single-channel multiplexing without melting curve analysis in real-time PCR.] Scientific Reports. (2014) 4:7439
5. Alba E. Vega, Teresa Alarcón, Diego Domingo and Manuel López-Brea. [Detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* in frozen gastric biopsies from pediatric patients by a commercially available fluorescent in situ hybridization.] Diagn Microbiol Infect Dis. 2007. Dec;59(4):421-423.
6. De Vries AC, Kuipers EJ. [*Helicobacter pylori* eradication for the prevention of gastric cancer.] Aliment Pharmacol Ther. 2007. Dec 26;Suppl 2:25-35.
7. Lgor A. Prokhorenko, Andrei D. Malakhov, Anna A. Kozlova, Kuvat Momynaliev, Vadim M. Govorun and Vladimir A. Korshun [Phenylethynylpyrene-labeled oligonucleotide probes for excimer fluorescence SNP analysis of 23S rRNA gene in clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains.] Mutat Res. 2006. Jul;599(1-2):144-151.
8. Cocchiara G, Romano M, Buscemi G, Maione C, Maniaci S, Romano G. [Advantage of Eradication Therapy for *Helicobacter pylori* Before Kidney Transplantation in Uremic Patients.] Transplant Proc. 2007. Dec;39(10):3041-3043.
9. Kist M. [*Helicobacter pylori*: primary antimicrobial resistance and first-line treatment strategies.] Euro Surveill. 2007. Jul 1;12(7):E1-2.
10. Elviss NC, Lawson AJ, Owen RJ. 8. [Application of 3'-mismatched reverse primer PCR compared with real-time PCR and PCR-RFLP for the rapid detection of 23S rDNA mutations associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*.] Int J Antimicrob Agents. 2004. Apr;23(4):349-55.
11. Chiba N. [Quadruple therapies appear to be more effective than triple therapies for eradicating single-drug-resistant *Helicobacter pylori*.] ACP J Club. 2008. Jan-Feb;148(1):9.
12. Gazi S, Karameris A, Christoforou M, Agnantis N, Rokkas T, Stefanou D. [Real-Time PCR Detection and quantitation of *Helicobacter pylori* clarithromycin-resistant strains in archival material and correlation with Sydney classification.] Ann Gastroenterol. 2013. 26:226-232.
13. Kim JM, Joo SK, Kim NY, Kim YJ, Kim IY, Chee YJ, Lee CH, Jung HC. [Gene Mutations of 23S rRNA Associated with Clarithromycin Resistance in *Helicobacter pylori* Strains Isolated from Korean Patients.] J. Microbiol. Biotechnol. 2008. Sep;18(9): 1584~1589
14. Eusebi LH1, Zagari RM, Bazzoli F. [Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection.] Helicobacter. 2014. Sep 19; Suppl 1:1-5
















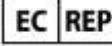



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

SÍMBOLOS

Clave sobre los símbolos que se han usado en el manual y las etiquetas

| Símbolo | Explicación |
|---|---|
|  | Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> |
|  | Código de lote |
|  | Número de catálogo |
|  | Utilizar por fecha |
|  | Límite superior de temperatura |
|  | Mezcla de oligonucleotidos para amplificación y detección |
|  | PCR Master Mix or Detection Mix |
|  | RNase-free Water |
|  | Control Positivo (PC) |
|  | Control Interno (IC) |
|  | Consulte las instrucciones de uso |
|  | Fabricante |
|  | Fecha de fabricación |
|  | Representante autorizado en la Comunidad Europea |
|  | Precaución |
|  | Contiene suficiente para <n> test |
|  | Identificador único del dispositivo |

INFORMACIÓN DE PEDIDO

| Núm. Cat. | Producto | Tamaño |
|-----------|----------|--------|
|-----------|----------|--------|

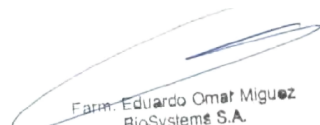
Allplex™ series

| | | |
|-----------------|--|----------------|
| HC10199Y | Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | 50 rxns |
| HC10200X | Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | 100 rxns* |

* Para usar solo con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet.

Sistemas de extracción automatizados

| | | |
|-----------------|--|-------------|
| 65415-02 | Microlab NIMBUS IVD | EA |
| 173000-075 | Microlab STARlet IVD | EA |
| 65415-03 | Seegene NIMBUS | EA |
| 67930-03 | Seegene STARlet | EA |
| 744300.4.UC384 | STARMag 96 X 4 Universal Cartridge kit | 384T / 1box |
| SGprep32-180701 | SGprep32 | EA |
| EX00003P | STARMag 96 UniPlate | 96T / 1box |
| EX00004T | STARMag 96 UniTube | 96T / 1box |



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Allplex™

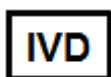
H. pylori & ClariR Assay

(N.º de Cat. HC10200X, HC10389Z)

Sistema de PCR múltiple en tiempo real para la detección de *H. pylori* y mutaciones de A2143G, A2142G y A2142C en el gen 23S rRNA responsable de la resistencia a la claritromicina de *H. pylori*.

Para uso con

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)



Solo para uso en diagnóstico *in vitro*



HC10200X



100



HC10389Z



25



Seegene Inc.,

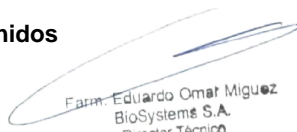
Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seúl, República de Corea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St. Ingbert, Alemania

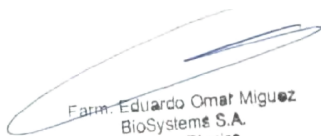
No está disponible en Estados Unidos


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| AVISOS | 3 |
| USO PREVISTO | 4 |
| PRINCIPIOS Y DESCRIPCIÓN GENERAL DEL PROCEDIMIENTO | 5 |
| ANTECEDENTES | 7 |
| REACTIVOS | 8 |
| ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN | 10 |
| MATERIALES NECESARIOS, PERO NO INCLUIDOS | 10 |
| PROTOCOLO | 11 |
| CONFIGURACIÓN DEL INSTRUMENTO REAL-TIME PCR Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS | 19 |
| RESULTADOS | 39 |
| SOLUCIÓN DE PROBLEMAS | 42 |
| RENDIMIENTO | 44 |
| REFERENCIAS | 52 |
| CLAVE DE LOS SÍMBOLOS | 53 |
| INFORMACIÓN PARA PEDIDOS | 55 |



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

AVISOS

- Solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- El Allplex™ H. pylori & ClariR Assay debe realizarlo personal con la cualificación y la formación adecuadas.
- La fiabilidad de los resultados depende de que las muestras sean adecuadamente recogidas, almacenadas, transportadas y procesadas.
- Si este producto se usa con **Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet**, se utilizará en 5 ejecuciones diferentes como máximo.
- **Este test ha sido aprobado para los siguientes tipos de muestras: Biopsia gástrica y heces humanas (muestra reciente de heces y heces conservadas en medio de transporte).** Este test no ha sido aprobado para ningún otro tipo de muestra.
- **Para muestras de biopsia gástrica, solo se han validado los kit de extracción de ácido nucleico manual.**
- **Almacene las muestras DNA a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ hasta que se vayan a usar y consérvelas en baño de hielo durante su uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede disminuir si las muestras se congelan y descongelan repetidas veces o si se almacenan durante mucho tiempo.
- El flujo de trabajo en el laboratorio debería desarrollarse de manera unidireccional.
- Deben llevarse siempre guantes desechables en cada zona y cambiarlos antes de entrar en las diferentes zonas. En caso de que se contaminen, se deben cambiar inmediatamente o tratar con un reactivo descontaminante de DNA.
- Destine materiales y equipamiento a estaciones de trabajo separadas y no los mueva de una zona a otra.
- No se debe pipetear con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las zonas de trabajo del laboratorio. Al manipular las muestras y reactivos, han de llevarse guantes sin talco desechables, bata de laboratorio y protección en los ojos. Deben lavarse bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de la prueba.
- Evite contaminar los reactivos al quitar las partes alícuotas de los tubos de reactivos. Se recomienda usar puntas de pipeta desechables estériles, resistentes a los aerosoles.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
- No use el producto después de su fecha de caducidad.
- No reúse los elementos desechables.
- Use tubos con tapa de rosca y evite cualquier posible salpicadura o contaminación cruzada de las muestras durante la preparación.

Firma: Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Por favor, tenga cuidado de no contaminar los reactivos con ácidos nucleicos extraídos, productos de PCR y control positivo. Para evitar la contaminación de los reactivos, se recomienda utilizar puntas con filtro.
- Use zonas de trabajo separadas y segregadas para cada experimento.
- Para evitar la contaminación de áreas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos de reacción o cintas PCR solamente en las áreas de trabajo asignadas, después de la amplificación.
- Los materiales positivos se han de almacenar separados de los reactivos del kit.
- Deben adoptarse los procedimientos de seguridad de laboratorio (consulte los documentos de Bioseguridad en los laboratorios microbiológicos y biomédicos y CLSI) al manipular las muestras. Limpie y desinfecte exhaustivamente todas las superficies de trabajo con hipoclorito de sodio al 0,5% (en agua desionizada o destilada). Los componentes del producto (residuos del producto, embalaje) se pueden considerar como residuos de laboratorio. Deseche los reactivos sin utilizar y los residuos conforme a las normativas nacionales, regionales y locales de aplicación.
- El Seegene NIMBUS y el Seegene STARlet son los mismos equipos que el Microlab NIMBUS IVD y el Microlab STARlet IVD, solo que el fabricante es distinto. Ya que no existen cambios en el hardware del dispositivo, los resultados de las pruebas son iguales.
- El nombre de la marca “CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD” pasó a ser “CFX96™ Dx System”. Ya que no se hicieron cambios al hardware del sistema, se espera que se obtengan los mismos resultados con ambos sistemas.
- El “CFX Manager™ Dx Software v3.1” es la versión actualizada del “CFX Manager™ Software-IVD v1.6”. El software actualizado incluye mejoras al menú “Run” (Ejecutar). Estas mejoras no afectan los resultados del análisis de datos; por lo que los resultados serán los mismos.
- Este kit está pensado para ayudar en el diagnóstico diferencial enfocado de *H. pylori* y las mutaciones de A2143G, A2142G y A2142C en el gen 23S rRNA responsable de la resistencia a la claritromicina de *H. pylori*.

USO PREVISTO

Allplex™ H. pylori & ClariR Assay es un test cualitativo *in vitro* para la detección múltiple o simple de *H. pylori* y mutaciones de A2143G, A2142G y A2142C en el gen 23S rRNA responsable de la resistencia a la claritromicina de *H. pylori*.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PRINCIPIOS Y DESCRIPCIÓN GENERAL DEL PROCEDIMIENTO

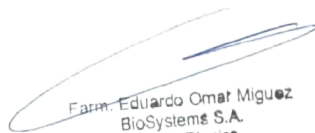
1. Principios

Allplex™ H. pylori & ClariR Assay representa tecnologías propiedad de Seegene y se basa en la tecnología mTOCE™, que permite detectar varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en instrumentos de real-time PCR.

El Allplex™ H. pylori & ClariR Assay es un ensayo múltiple de PCR en tiempo real que permite la amplificación y detección simultáneas de los ácidos nucleicos diana de *H. pylori* (HP), la mutación puntual de la resistencia a la claritromicina (A2143G, A2142G y A2142C en el 23S rRNA) y el Control Interno (IC). La presencia de una secuencia patógena específica en la reacción se informa como un valor de C_t a través del análisis del visor de Seegene.

En PCR, la eficiencia de la amplificación se ve reducida con frecuencia por inhibidores presentes en muestras clínicas. Para muestras de heces humanas, el Control Interno (IC) se incorpora en el producto como un control exógeno del conjunto del proceso para controlar la extracción del ácido nucleico y comprobar una posible inhibición de PCR. El Control Interno (IC) es coamplificado con ácidos nucleicos diana dentro de las muestras clínicas. Para muestras de biopsia gástrica, se utiliza un gen endógeno humano como Control Interno (IC) de muestras de hisopos rectales para supervisar todo el proceso de recogida de muestras, extracción de ácido nucleico y constatar cualquier posible inhibición de la PCR.

Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, en el Allplex™ H. pylori & ClariR Assay se utiliza un sistema Uracil-DNA glicosilasa (UDG). El sistema UDG-dUTP se usa comúnmente cuando se realiza una PCR para eliminar los amplicones sobrantes usando escisiones por UDG de residuos de uracilo desde el DNA mediante la escisión del enlace N-glicosílicos.

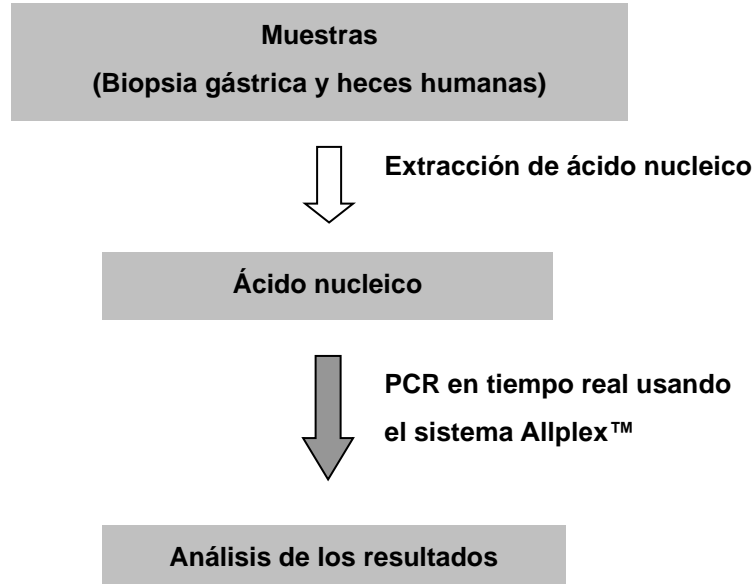


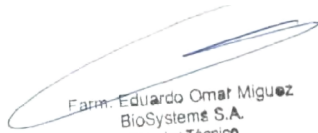
Fernando Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. Información sobre el procedimiento



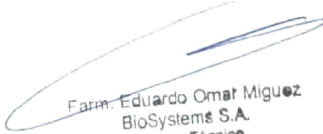

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ANTECEDENTES

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), una de las principales causas de la gastritis crónica, está fuertemente asociado con el desarrollo de úlceras gástricas y duodenales y se ha relacionado con el adenocarcinoma gástrico y el linfoma del tejido linfoide asociado a la mucosa de células B. El tratamiento de la infección por *H. pylori* ha sido objeto de una gran cantidad de ensayos clínicos en los últimos años.

El tratamiento actual de la infección por *H. pylori* consiste en un régimen triple o cuádruple que incluye un inhibidor de protones y antibióticos, como la amoxicilina y la claritromicina. Por lo tanto, el *H. pylori* resistente a la claritromicina ha presentado un serio obstáculo para su tratamiento. Así, la detección del *H. pylori* resistente a la claritromicina antes del tratamiento es crucial para aumentar la eficacia del tratamiento al prescribir otros antibióticos y prevenir el uso indebido de los antibióticos. La mayoría de los *H. pylori* resistentes a la claritromicina tienen mutaciones puntuales en las secuencias de 2142 y 2143 bases del gen 23S rRNA, y existen como A2143G, A2142G y A2142C, respectivamente.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503




Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 100 reacciones.

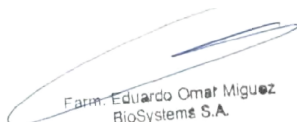
Información de pedido (**REF** **HC10200X**)

| Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | | | |
|---|-------------------|----------------|--|
| Símbolo | Contenido | Volumen | Descripción |
| PRIMER | H.ClariR MOM | 500 µL | Mezcla de oligos de MuDT (MOM): - Reactivos de amplificación y detección |
| PREMIX | EM1 | 500 µL | - Polimerasa de DNA - Uracil-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón que contiene dNTPs |
| CONTROL + | H.ClariR PC | 50 µL | Control Positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones IC |
| CONTROL IC | H.ClariR IC | 1.000 µL | Control Interno exógeno (IC) - para muestras de heces humanas |
| WATER | RNase-free Water | 1.000 µL | Calidad ultrapura, grado PCR |
|  | Manual de usuario | | |

Producto accesorio: software de análisis

Seegene Viewer*


* El software de análisis lo proporcionan Seegene Inc. o el gestor regional. Utilice Seegene Viewer posterior a V3.


 FARM. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

Los reactivos contenidos en un kit son suficientes para 25 reacciones.

Información para pedidos (**REF** **HC10389Z**)

| Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | | | |
|---|--------------------|----------------|---|
| Símbolo | Contenido | Volumen | Descripción |
| PRIMER | H.ClariR MOM | 125 µL | Oligomezcla MuDT (MOM): - Reactivo de amplificación y detección |
| PREMIX | EM1 | 125 µL | - DNA polimerasa - Uracilo-DNA glicosilasa (UDG) - Tampón con dNTPs |
| CONTROL + | H.ClariR PC | 50 µL | Control positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones del IC |
| CONTROL IC | H.ClariR IC | 250 µL | Control interno (IC) exógeno - para muestras de heces humanas |
| WATER | RNase-free Water | 1.000 µL | Calidad ultrapura, para PCR |
|  | Manual del usuario | | |

Producto accesorio: software de análisis

Seegene Viewer*

* El software de análisis lo proporcionan Seegene Inc. o el gestor regional. Utilice Seegene Viewer posterior a V3.


Farid Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

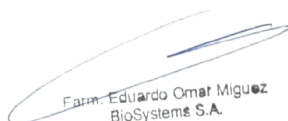
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay deben almacenarse a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Todos los componentes son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El rendimiento de los componentes del kit no se ve afectado hasta que se lleven a cabo 5 congelaciones y descongelaciones. Si se van a utilizar los reactivos solo de forma intermitente, deben almacenarse en partes alícuotas.

MATERIALES NECESARIOS, PERO NO INCLUIDOS

- Guantes desechables sin talco (látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubo de microcentrifugación de 1,5 mL
- Kit de extracción de ácido nucleico (véase Extracción de Ácido Nucleico)
- ASL Buffer (Tampón ASL) (N.º de Cat. 19082, Qiagen)
- FLOQ Swab (N.º de Cat. 502CS01, Copan)
- Máquina de hielo
- Centrífuga de sobremesa
- Mezclador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- Low-Profile 0.2 mL 8-Tube Strips without Caps (color blanco, N.º de Cat. TLS0851, Bio-Rad)
- Optical Flat 8-Cap Strips (N.º de Cat. TCS0803, Bio-Rad)
- Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, low profile, thin wall, skirted, white/white (N.º de Cat. HSP9655, Bio-Rad)
- Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, low profile, thin wall, skirted, white/white, barcoded (N.º de Cat. HSP9955, Bio-Rad)
- Permanent Clear Heat Seal (N.º de Cat. 1814035, Bio-Rad)*
- PX1 PCR plate sealer (sellador automático, N.º de Cat. 181-4000, Bio-Rad)*

* Asegúrese de usar el sello térmico y el sellador de placas listados arriba juntos.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

PROTOCOLO**1. Recogida de muestras, almacenamiento y transporte**

Nota: Todas las muestras se deben tratar como material potencialmente infeccioso. Solo se permiten los materiales de las muestras que se recojan, almacenen y transporten de acuerdo con las siguientes normas e instrucciones.

Biopsia gástrica**Heces humanas (muestra reciente de heces y heces conservadas en medio de transporte)**

Nota: Para garantizar la alta calidad de las muestras, estas se han de transportar lo más rápido posible, y según las condiciones de temperatura indicadas.

A. Recogida de muestras**Biopsia gástrica**

- No se puede utilizar tejido embebido en parafina.
- La muestra recolectada debe analizarse de inmediato para un resultado garantizado.

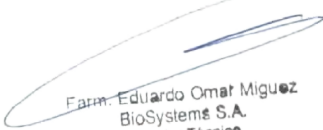
Muestra reciente de heces

- Coloque la muestra de heces en un recipiente hermético conservador o libre de medio.

Heces conservadas en medio de transporte

- (a) Cary Blair medio de transporte (comercial)
- (b) eNAT (COPAN)

| Kit de recogida | Fabricante | N.º de Cat. |
|-----------------------------|------------|-------------|
| eNAT 1ML R-SHAPE APPLICATOR | COPAN | 608CS01R |


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Almacenamiento y transporte de muestras

| Muestras | Almacenamiento y transporte | | Nota |
|----------|-----------------------------|-----------|---|
| | Temp. | Duración* | |
| Biopsia | 2~8°C | 7 días | <ul style="list-style-type: none"> - El rendimiento puede verse afectado por la congelación/descongelación frecuente o el almacenamiento prolongado de muestras. - Las muestras también deben adherirse a las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno. |
| Heces | 2~8°C | 2 días | |
| | -20°C | 1 mes | |

* **Duración:** Tiempo desde la recogida de muestras hasta la realización del test, incluyendo el almacenamiento y el transporte de las muestras antes de la realización del test.

2. Extracción de ácido nucleico
2-1. Biopsia gástrica

Nota: Para la muestra de biopsia gástrica, el gen endógeno se utiliza como control interno (IC). No es necesario agregar IC para la extracción.

Nota: El resultado no válido para el control interno endógeno en la muestra de biopsia gástrica aparece ocasionalmente debido al muestreo inadecuado. En este caso, por favor consulte la sección de resolución de problemas (páginas 42~43).

A. Kit de extracción de ácido nucleico manual

Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

| Extracción Kit | Fabricante | N.º de Cat. | Volumen recomendado |
|--------------------------|------------|-------------|---|
| QIAamp® DSP DNA Mini Kit | QIAGEN | 61304 | Muestra: Biopsia gástrica Elución: 50 µL |
| QIAamp® DNA Mini Kit | QIAGEN | 51304 | Muestra: Biopsia gástrica Elución: 50 µL |

Firma: Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2-2. Heces humanas**A. Tratamiento previo de las muestras****A-1. Heces y heces conservadas en el medio de transporte Cary Blair**

- a. STARMag (NIMBUS, STARlet, Maelstrom™ 9600, SEEPREP32)
 - Recoja la muestra de heces (**50 ~ 100 mg**) usando hisopos.
 - Suspenda el hisopo en 1 mL de **ASL Buffer**.
 - Pulse el agitador vórtex durante 1 minuto y luego incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
 - Centrifugue a máxima velocidad (20.000 xg, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
 - Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
 - Siga el protocolo del fabricante

- b. NucliSENS® easyMAG®
 - Recoja la muestra de heces (**100 ~ 200 mg**) usando hisopos.
 - Suspenda el hisopo en 1 mL de **NucliSENS Lysis Buffer**.
 - Pulse el agitador vórtex durante 1 minuto y luego incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
 - Centrifugue a máxima velocidad (20.000 x g, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
 - Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
 - Siga el protocolo del fabricante

- c. QIAamp® DNA Mini Kit (o QIAamp® DSP DNA Mini Kit)
 - Recoja la muestra de heces (**100 ~ 200 mg**) usando hisopos.
 - Suspenda el hisopo en 1 mL de **ASL Buffer**.
 - Pulse el agitador vórtex durante 1 minuto y luego incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
 - Centrifugue a máxima velocidad (20.000 x g, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
 - Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
 - Siga el protocolo del fabricante

A-2. eNAT (COPAN)

- Mezcle mediante vórtex el tubo eNAT durante 2 minutos.
- Incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Transfiera la muestra a tubos nuevos de microcentrifugación de 1,5 mL y centrifugue a máxima velocidad (20.000 x g, 14.000 rpm) durante 2 minutos.
- Use el sobrenadante como una muestra del paso de extracción de ácido nucleico.
- Siga el protocolo del fabricante.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Control Interno

Nota: El IC se incluye en el kit para permitir a los usuarios confirmar no solo el procedimiento de extracción de ácido nucleico, sino también para identificar cualquier inhibición de PCR.

- Deben añadirse 10 µL de H.ClariR IC a cada muestra antes de la extracción de ácido nucleico*.
- El IC puede añadirse, bien directamente al tampón de lisis, bien a la mezcla de muestra y tampón de lisis*.
- Al usar Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet, el tubo de H.ClariR IC se debe cargar en el equipo de extracción antes de la extracción de ácido nucleico.

* **Nota:** En caso de añadirlo directamente al tampón de lisis, tenga cuidado de no introducir burbujas de aire.

C. Sistema de extracción de ácido nucleico automatizado

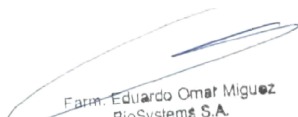
Nota: Utilice los volúmenes recomendados de muestras y eluciones tal y como se indica a continuación. Para el resto, consulte el protocolo del fabricante.

C-1. Microlab NIMBUS IVD

Nota: Véase el manual de funcionamiento de **Microlab NIMBUS IVD**.

| Sistema de extracción automatizado | Fabricante | N.º de Cat. | Vol. recomendado |
|--|------------|--------------------|------------------------------------|
| Microlab NIMBUS IVD | Hamilton | 65415-02* | - |
| STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit | Seegene | 744300.4. UC384 | Muestra: 800 µL Elución: 100 µL |

* Si desea adquirir este producto a Seegene Inc., use este número de catálogo.


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C-2. Microlab STARlet IVD

Nota: Véase el manual de funcionamiento de **Microlab STARlet IVD**.

| Sistema de extracción automatizado | Fabricante | N.º de Cat. | Vol. recomendado |
|--|------------|--------------------|------------------------------------|
| Microlab STARlet IVD | Hamilton | 173000-075* | - |
| STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit | Seegene | 744300.4. UC384 | Muestra: 800 µL Elución: 100 µL |

* Si desea adquirir este producto a Seegene Inc., use este número de catálogo.

C-3. Seegene NIMBUS

Nota: Véase el manual de funcionamiento de **Seegene NIMBUS**.

| Sistema de extracción automatizado | Fabricante | N.º de Cat. | Vol. recomendado |
|--|------------|--------------------|------------------------------------|
| Seegene NIMBUS | Seegene | 65415-03 | - |
| STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit | Seegene | 744300.4. UC384 | Muestra: 800 µL Elución: 100 µL |

C-4. Seegene STARlet

Nota: Véase el manual de funcionamiento de **Seegene STARlet**.

| Sistema de extracción automatizado | Fabricante | N.º de Cat. | Vol. recomendado |
|--|------------|--------------------|------------------------------------|
| Seegene STARlet | Seegene | 67930-03 | - |
| STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit | Seegene | 744300.4. UC384 | Muestra: 800 µL Elución: 100 µL |

C-5. NucliSENS® easyMAG®

Nota: Continúe con el proceso de extracción con **“generic protocol”**.

| Sistema de extracción automatizada | Fabricante | N.º de cat. | Vol. recomendado |
|------------------------------------|------------|-------------|---|
| NucliSENS® easyMAG® | bioMérieux | 200111 | Muestra: 200 µL Sílice magnética: 50 µL Elución: 100 µL |

Firma: Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C-6. Maelstrom™ 9600

Nota: Continúe con el proceso de extracción con el protocolo “STARMAGM96”

| Sistema de extracción automatizada | Fabricante | N.º de cat. | Vol. recomendado |
|------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| Maelstrom™ 9600 | Taiwan Advanced Nanotech Inc. | M9600 | - |
| STARMag™ M96 Kit | Seegene | EX00029P, EX00030P | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |

C-7. SEEPREP32

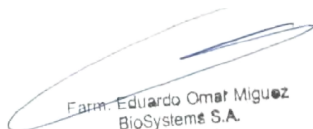
Nota: Continúe con el proceso de extracción con el protocolo “STARMag_SP32”

| Sistema de extracción automatizada | Fabricante | N.º de cat. | Vol. recomendado |
|------------------------------------|------------|-------------|------------------------------------|
| SEEPREP32 | Seegene | SG71100 | - |
| STARMag™ SP32 Kit (Plate Type) | Seegene | EX00028P | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |
| STARMag™ SP32 Kit (Tube Type) | Seegene | EX00028T | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |

D. Kits de extracción de ácido nucleico manual

Nota: Use los volúmenes recomendados de muestra y elución indicados a continuación. Para otros datos, consulte el protocolo del fabricante.

| Kit de extracción | Fabricante | N.º de cat. | Vol. recomendado |
|--------------------------|------------|-------------|------------------------------------|
| QIAamp® DSP DNA Mini Kit | QIAGEN | 61304 | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |
| QIAamp® DNA Mini Kit | QIAGEN | 51304 | Muestra: 200 µL Elución: 100 µL |


 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

3. Preparación de PCR en tiempo real

Nota: Deben usarse tubos y tapas adecuados (véase páginas 10).

Nota: Deben usarse filtros resistentes a los aerosoles y guantes ajustados al preparar las reacciones de PCR de un solo paso. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: Descongele totalmente todos los reactivos en baño de hielo.

Nota: Centrifugue brevemente los tubos de reactivos para recoger las gotas residuales de dentro de la tapa.

Nota: Los pasos A a D se procesan automáticamente en Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS y Seegene STARlet. Consulte cada manual de funcionamiento.

A. Prepare la Mastermix de PCR.

| | |
|-------|-----------------------------------|
| 5 µL | H.ClariR MOM |
| 5 µL | RNase-free Water |
| 5 µL | EM1 |
| <hr/> | |
| 15 µL | Volumen total de Mastermix de PCR |

Nota: Calcule la cantidad total necesaria de cada reactivo, con base en la cantidad de reacciones, incluyendo muestras y controles.

B. Mezcle rápido en un mezclador de vórtice y centrifugue brevemente.

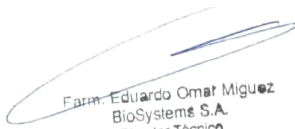
C. Utilice una parte proporcional de 15 µL de Mastermix de PCR en los tubos de PCR.

D. Añada 5 µL de los ácidos nucleicos de cada muestra en el tubo que contiene la Mastermix de PCR.

| | |
|-------|------------------------------|
| 15 µL | Mastermix de PCR |
| 5 µL | Ácido nucleico de la muestra |
| <hr/> | |
| 20 µL | Volumen total de la reacción |

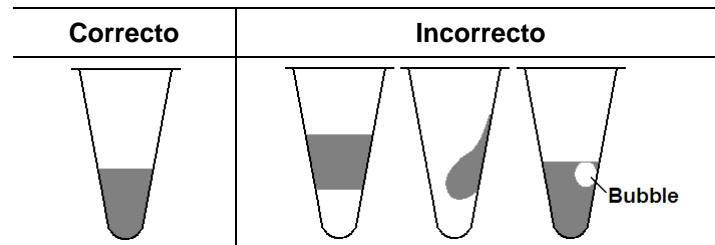
E. Cierre la tapa y centrifugue brevemente los tubos de PCR.

F. Verifique que el líquido que contienen todos los componentes de PCR se encuentre en el fondo de cada tubo de PCR. Si no es así, centrifugue de nuevo a mayores rpm durante más tiempo.


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Nota: Se recomienda centrifugar a baja velocidad los tubos de PCR antes de la PCR para eliminar las burbujas de aire y recoger todos los líquidos residuales en la parte inferior de los tubos.



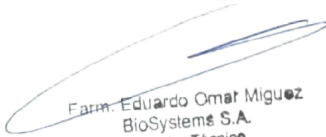
Nota: Con cada muestra, use una nueva punta de pipeta estéril.

Nota: Para el **Control Negativo (NC)**, use 5 µL de **RNase-free Water** en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el **Control Positivo (PC)**, use 5 µL de **H.ClariR PC** en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Tenga cuidado de que no se produzca una contaminación cruzada del Mastermix de PCR y de las muestras con el Control Positivo.

Nota: No etiquete el tubo de reacción en su tapa. La fluorescencia se detecta desde la parte superior de cada tubo de reacción.


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CONFIGURACIÓN DEL INSTRUMENTO REAL-TIME PCR Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)

1.1. Configuración del Instrumento Real-time PCR

Nota: La configuración del experimento en el CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

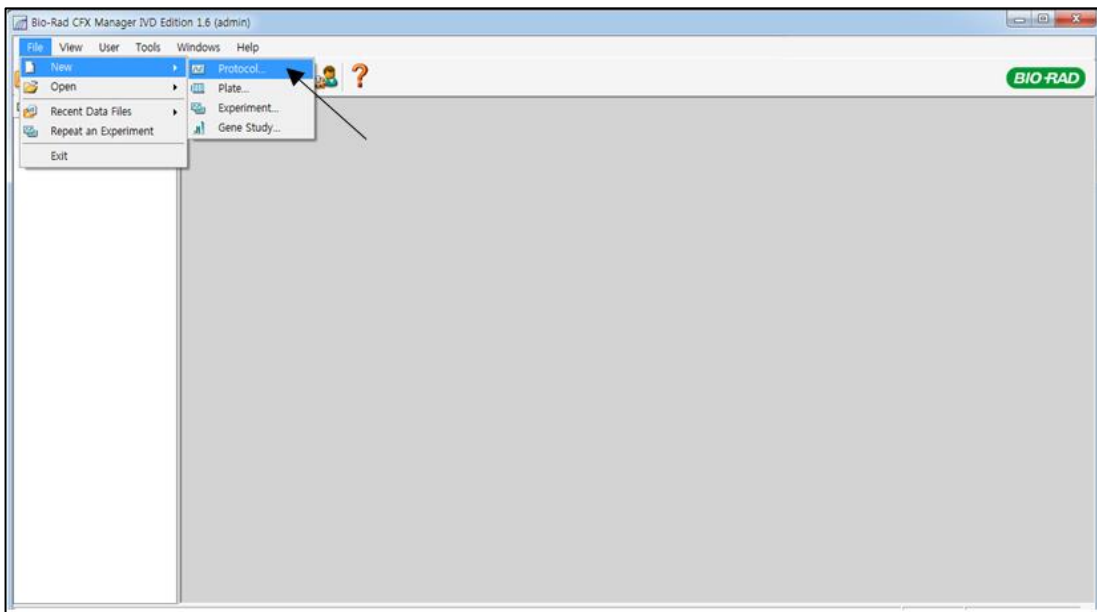


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

| Paso | No. de ciclos | Temp. | Duración |
|------|---------------------------|-------|----------|
| 1 | 1 | 95°C | 15 min |
| 2 | | 95°C | 10 seg |
| 3* | 50 | 60°C | 1 min |
| 4 | | 72°C | 10 seg |
| 5 | GOTO Paso 2, 49 veces más | | |

Nota*: Lectura de placa en el paso 3. La fluorescencia se detecta a 60°C.

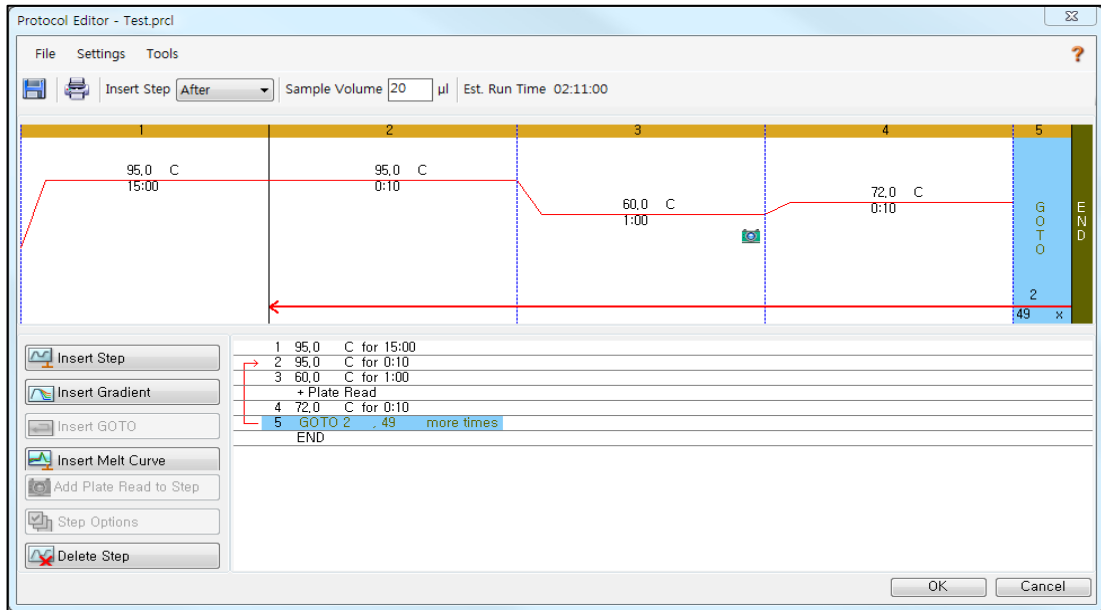


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.

4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

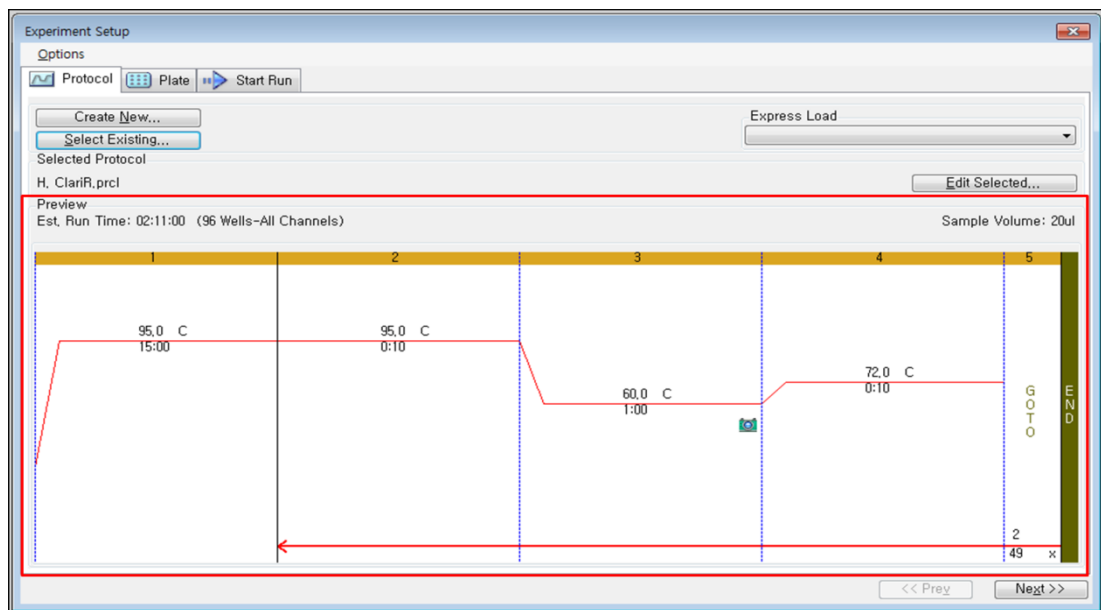


Fig. 3. Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

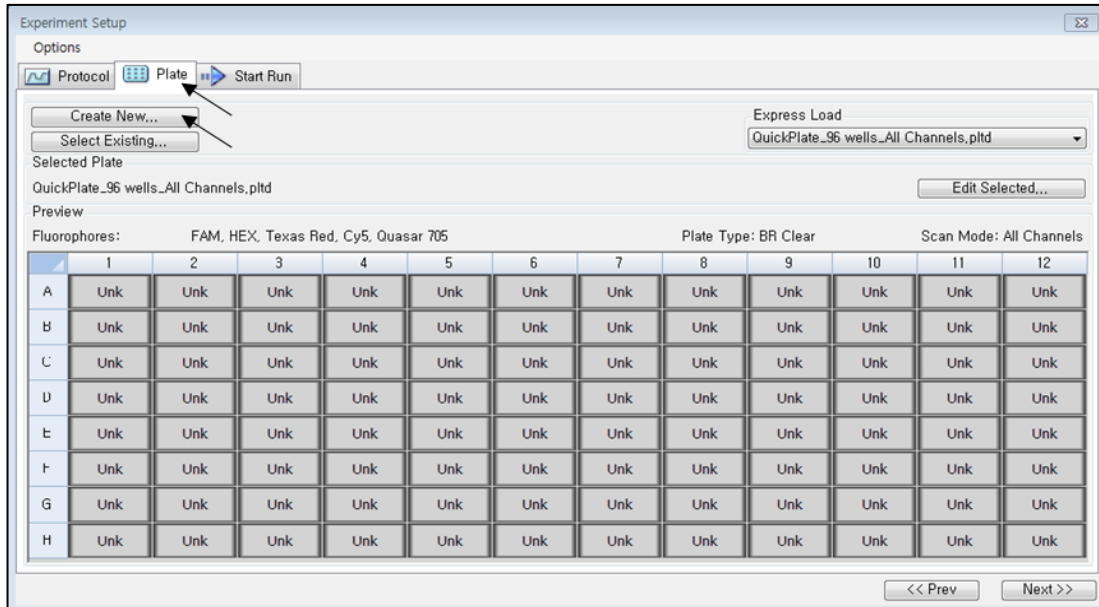


Fig. 4. Plate Editor (Editor de placa)

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

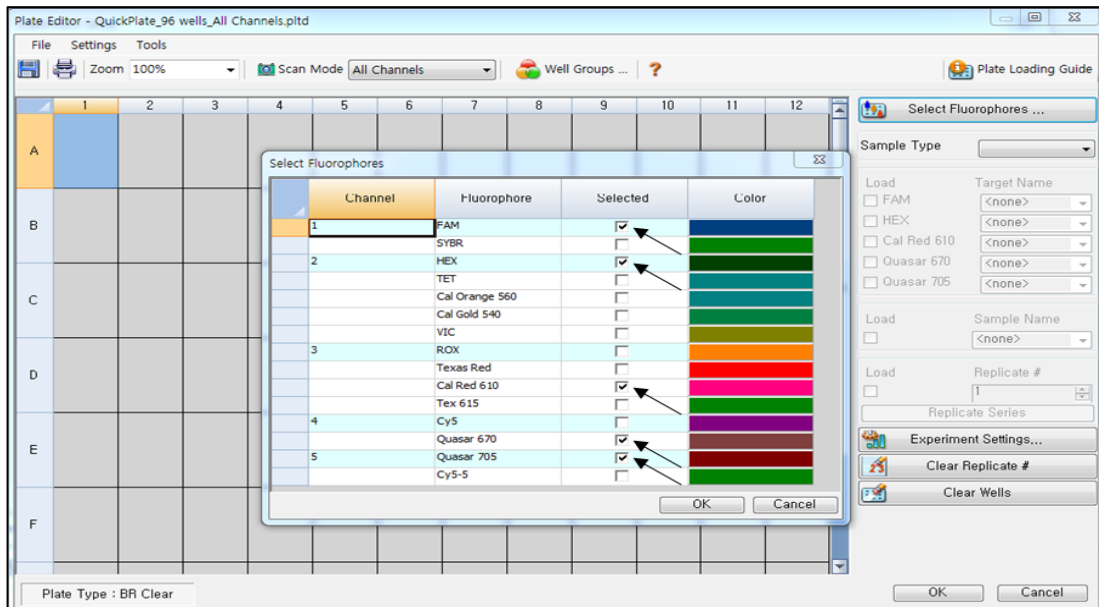


Fig. 5. Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos) (FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670, y Quasar 705)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type (Tipo de Muestra)**.

- **Unknown (Desconocidos):** muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

4) Haga clic en las casillas de verificación adecuadas (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y presione la tecla Intro.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

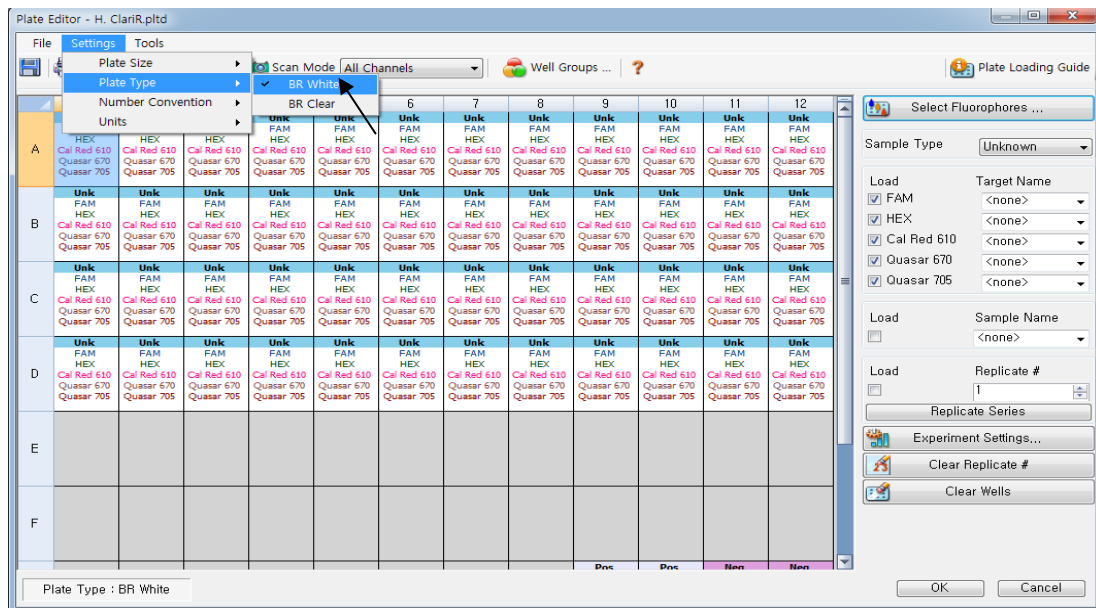


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.

Firm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

8) Regresará a la ventana **Experiment Setup (Configuración del experimento)**.

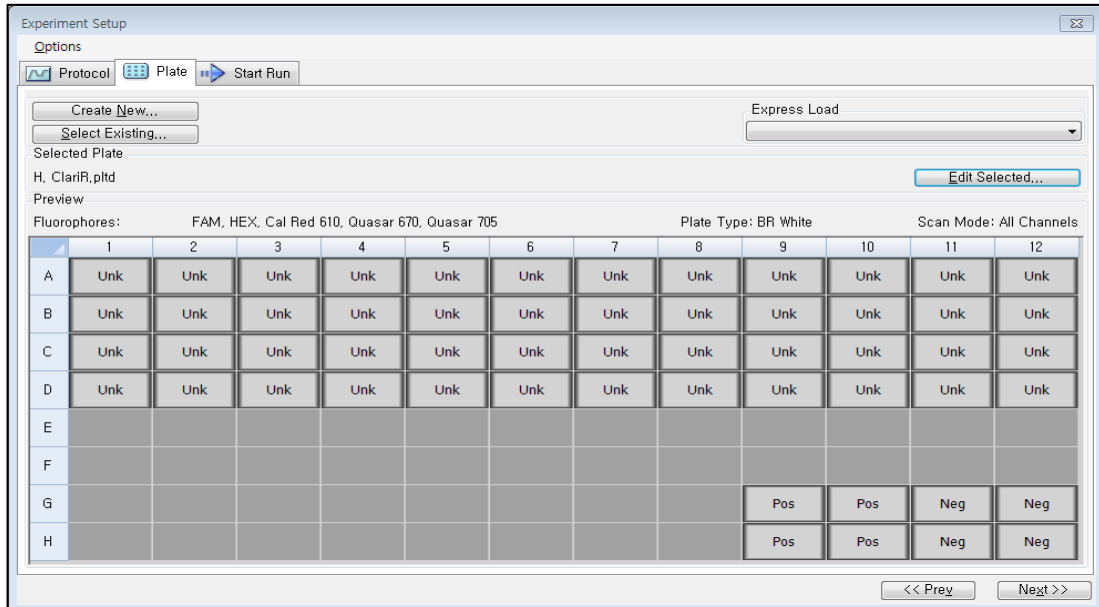


Fig. 7. **Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)**

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

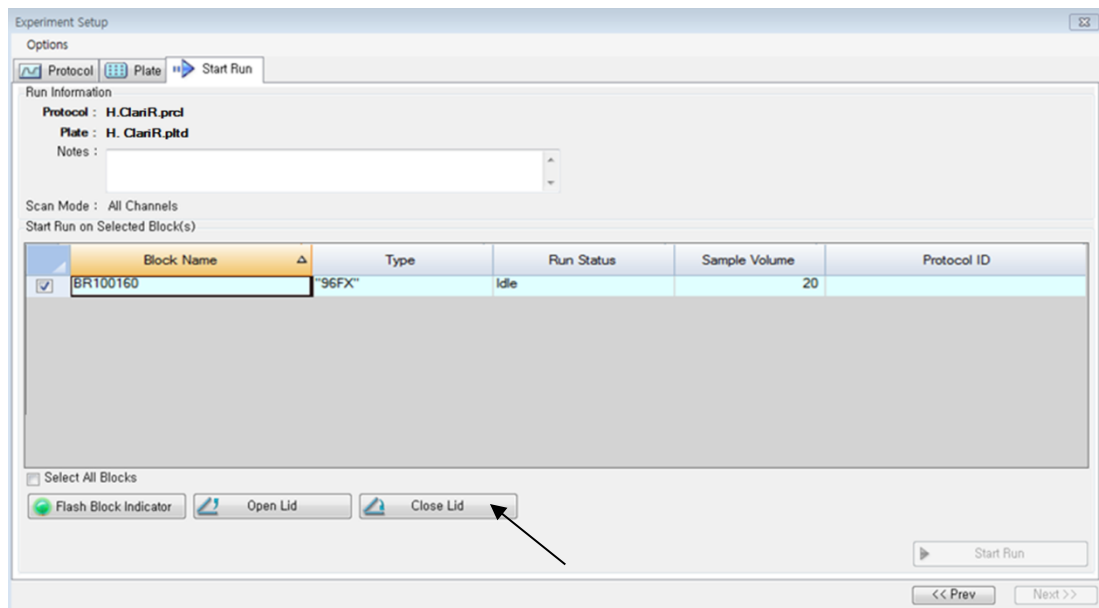


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

Firma: Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.
 05/2022 V1.04_(ES)

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

1.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Cree una carpeta para guardar los datos de todos los pasos de detección de las curvas de amplificación a partir del archivo de resultados.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep3" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

B. Configuración previa para el análisis CFX Manager™

1) Después del test, haga clic en la pestaña Quantitation (Cuantificación) para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

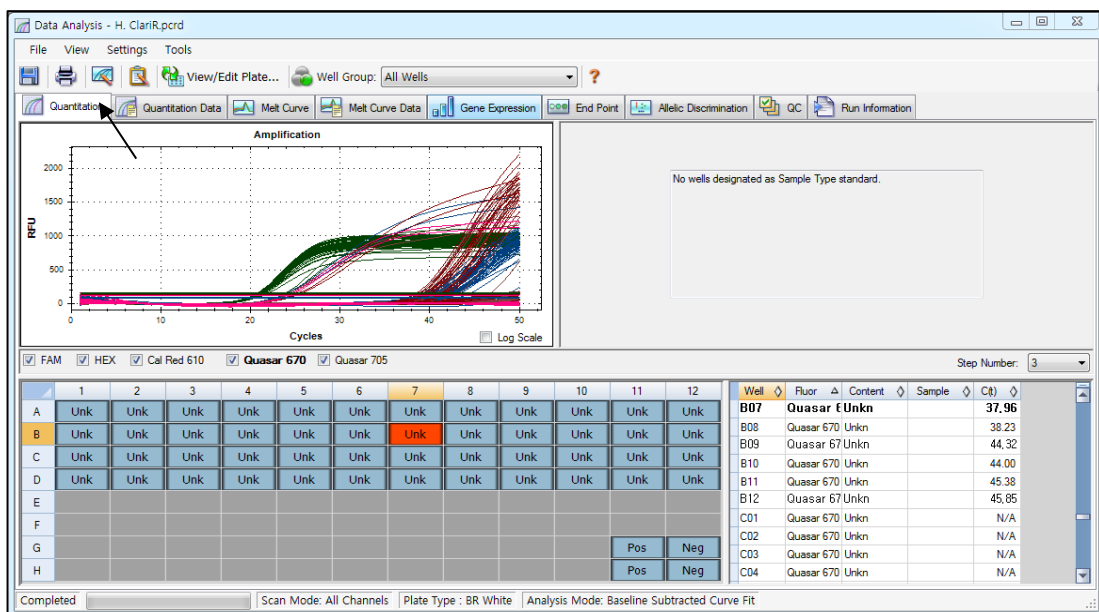


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el **Analysis Mode (Modo Análisis)** del menú **Settings (Configuración)**.

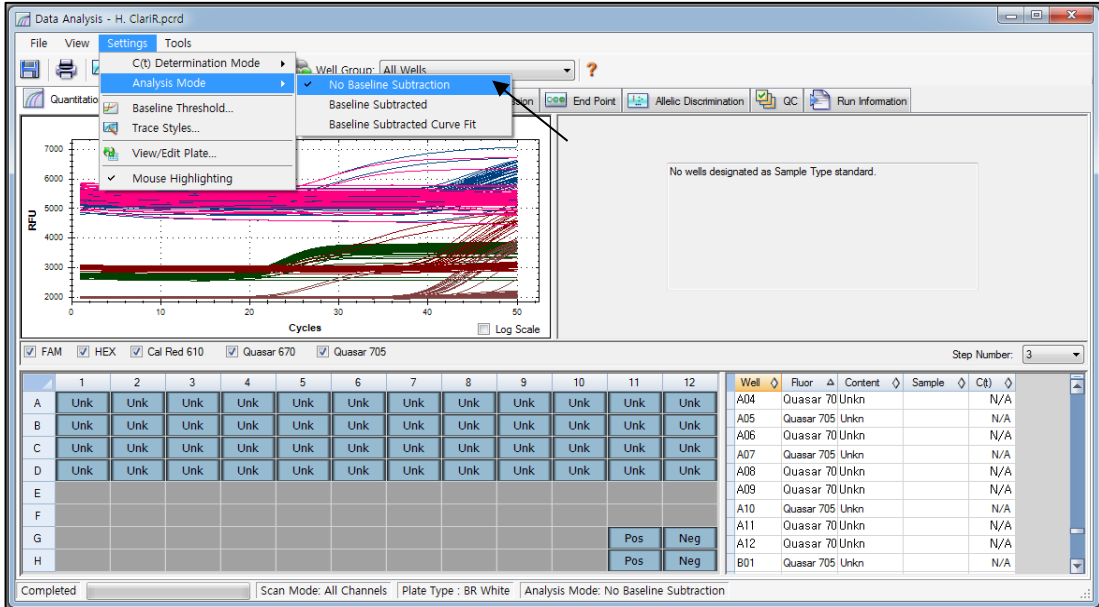


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)**

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación de Seegene)** en el menú **Tools (Herramientas)**.

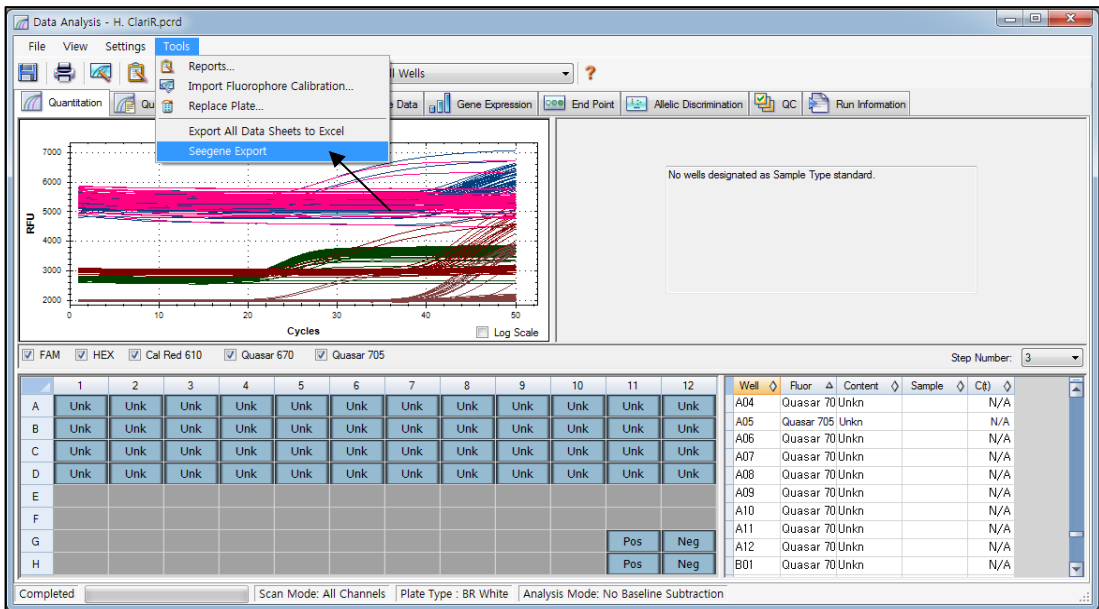


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

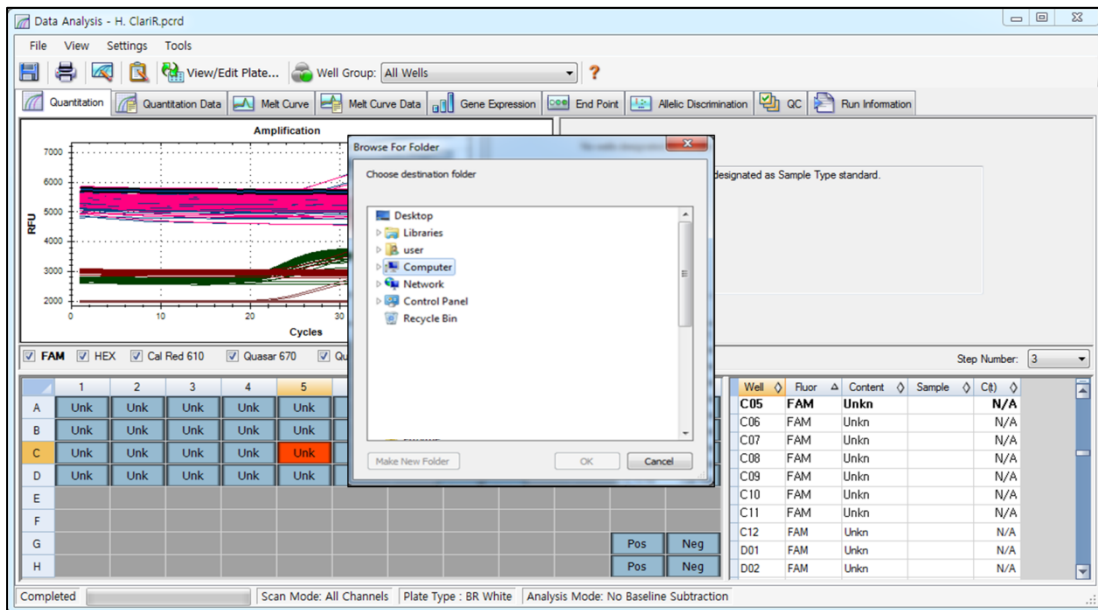


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

C. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option (Opción)** para seleccionar **CFX96** en el **Instrument (Instrumento)**.

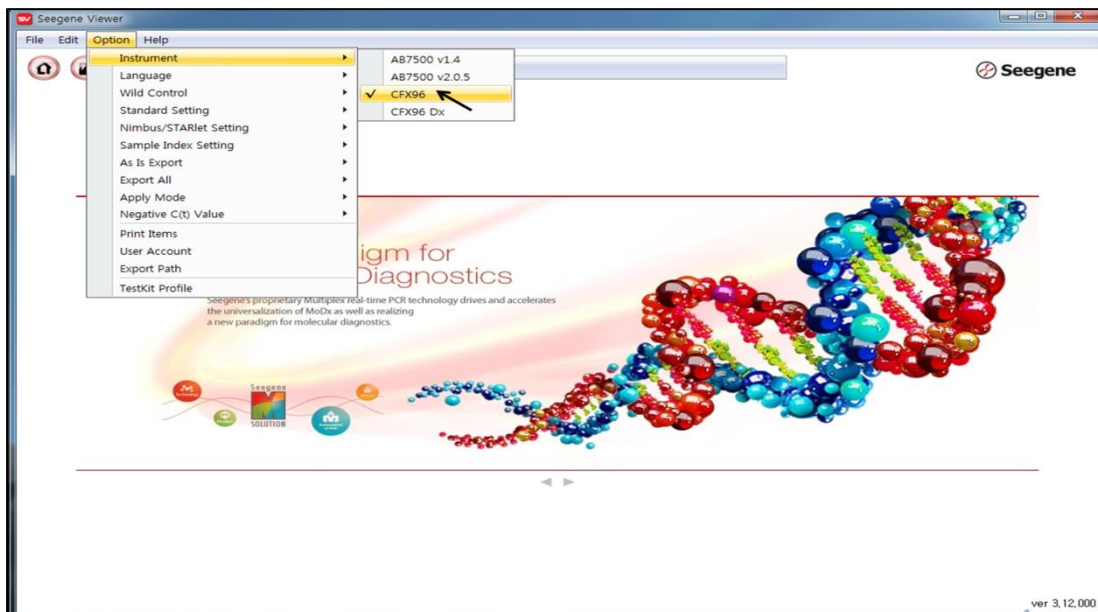


Fig. 13. Seegene Viewer

Fernando Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para encontrar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep3", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

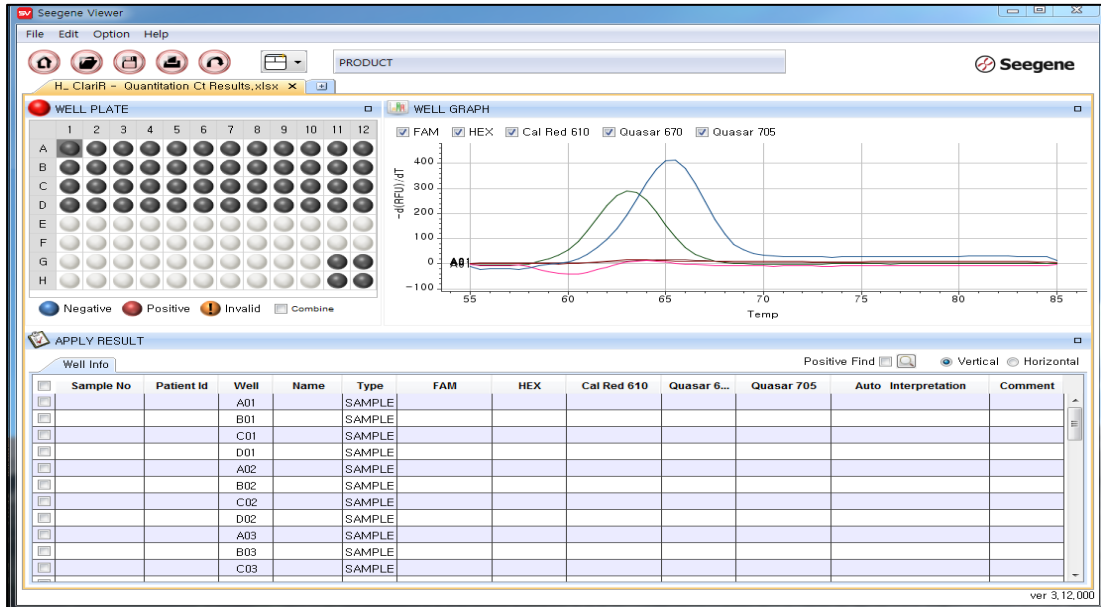


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

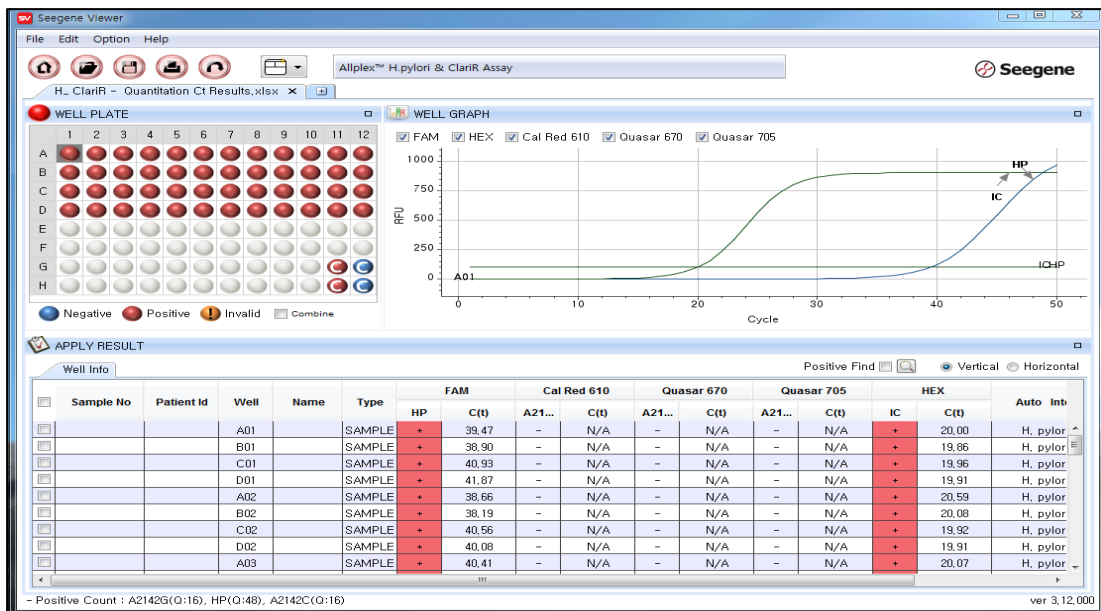


Fig. 15. Resultado del test en Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

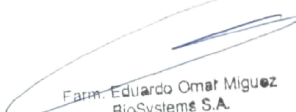
4) Criterios de validación de los resultados del control
a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez del experimento, la reacción de PCR incluye PC (Control Positivo) y NC (Control Negativo). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

| Control | Resultado de Seegene Viewer | | | | | Interpretación automática |
|------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | FAM (C _t) | HEX (C _t) | Cal Red 610 (C _t) | Quasar 670 (C _t) | Quasar 705 (C _t) | |
| | HP | IC | A2143G | A2142G | A2142C | |
| Control Positivo | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | Control Positivo(+) |
| Control Negativo | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A | Control Negativo(-) |

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos en los que no se consiga la validación, los resultados de la muestra no se deben interpretar ni notificar, y se deberá llevar a cabo el ciclo de nuevo.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)

2.1. Configuración del Instrumento Real-time PCR

Nota: La configuración del experimento en el CFX96™ Dx System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) e Start Run (Inicio del ciclo).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

1) En el menú principal, seleccione **File (Archivo) → New (Nuevo) → Protocol (Protocolo)** para abrir el **Protocol Editor (Editor de protocolo)**.

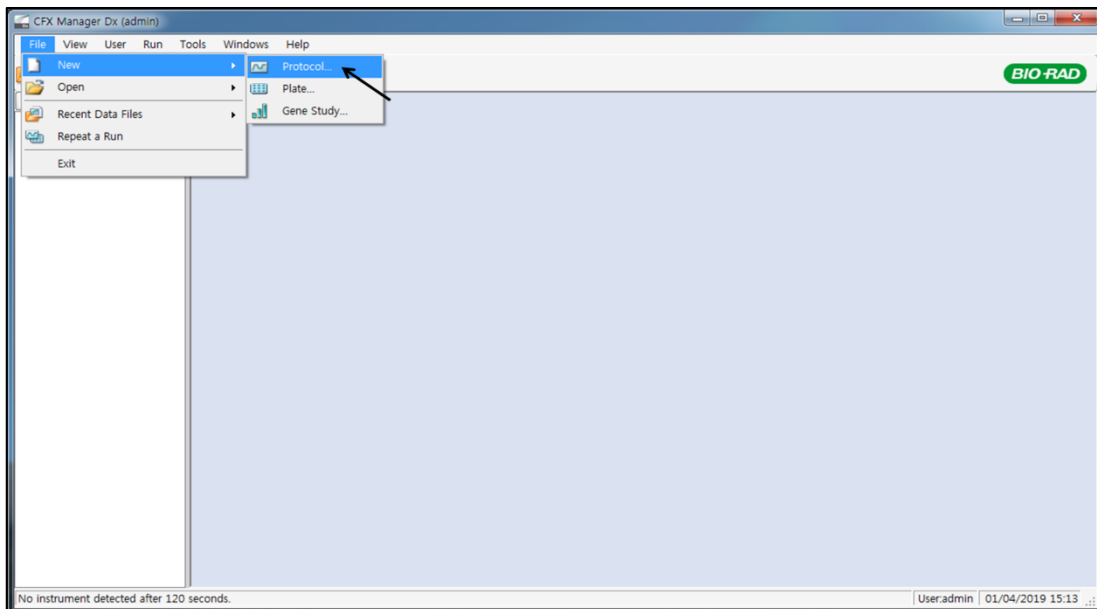


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolo)**, defina el perfil térmico como sigue:

| Paso | No. de ciclos | Temp. | Duración |
|------|---------------------------|-------|----------|
| 1 | 1 | 95°C | 15 min |
| 2 | | 95°C | 10 seg |
| 3* | 50 | 60°C | 1 min |
| 4 | | 72°C | 10 seg |
| 5 | GOTO Paso 2, 49 veces más | | |

Nota*: Lectura de placa en el paso 3. La fluorescencia se detecta a 60°C.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

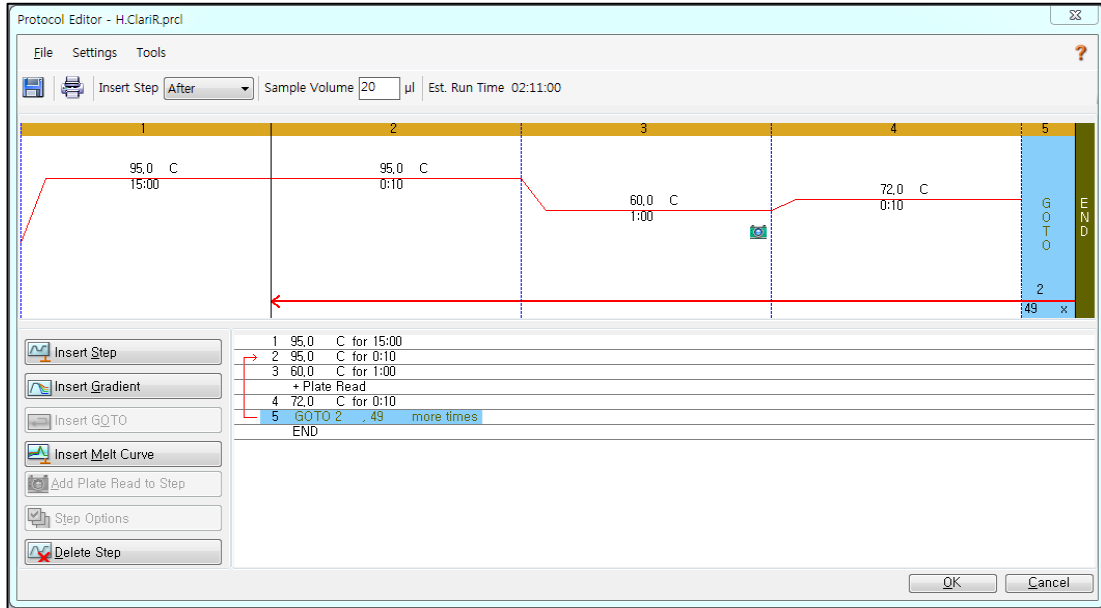


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolo)

3) Haga clic en el cuadro al lado de **Sample Volume (Volumen de la muestra)** para añadir directamente 20 µL.

4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**.

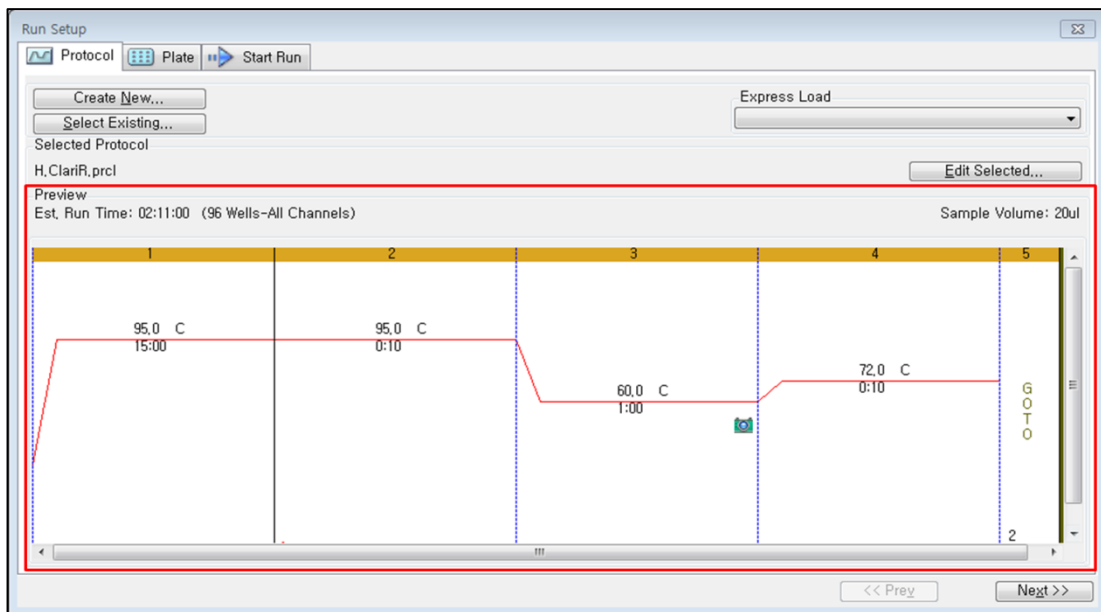


Fig. 3. Run Setup (Configuración del Ejecutar): Protocol (Protocolo)

Firma: Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) En la pestaña **Plate (Placa)** en **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placa)**.

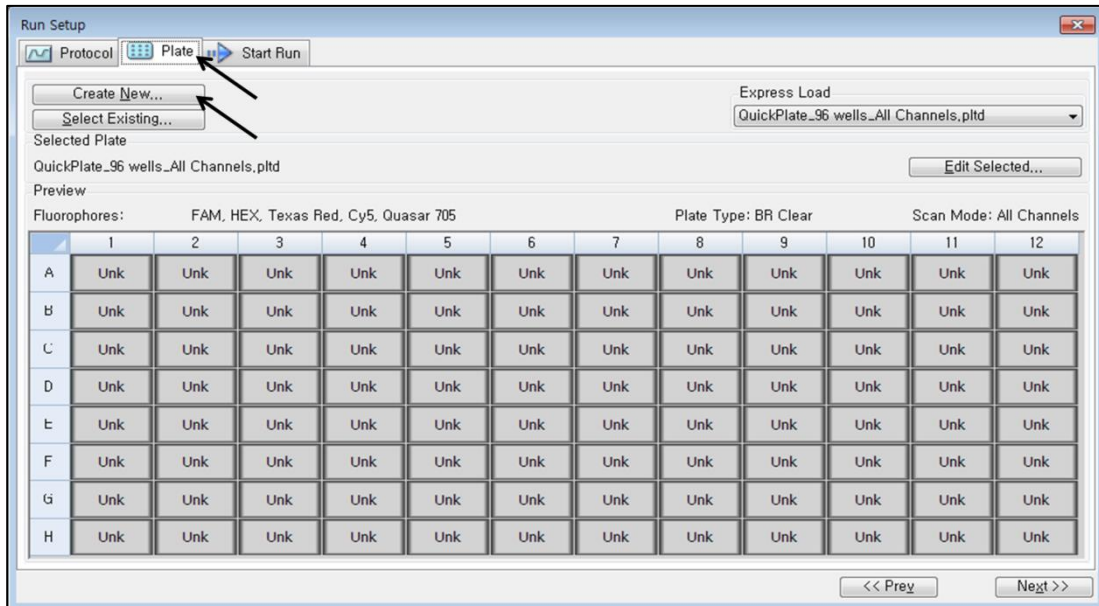


Fig. 4. Plate Editor (Editor de placa)

2) Haga clic en **Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos)** para indicar los fluoróforos (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) que se van a usar y haga clic en **OK (Aceptar)**.

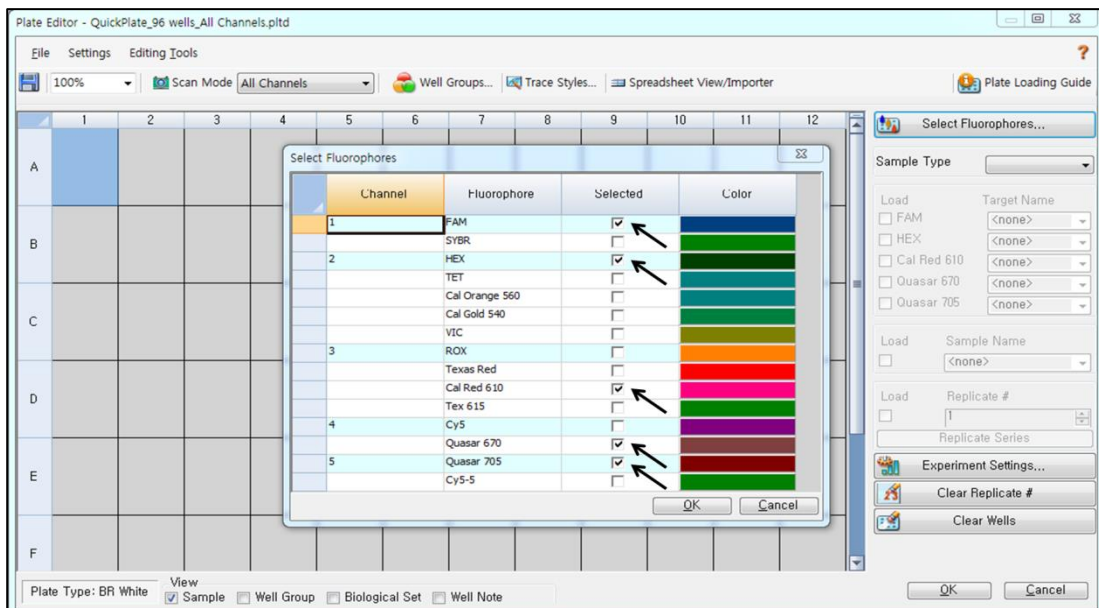


Fig. 5. Select Fluorophores (Seleccionar fluoróforos) (FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670, y Quasar 705)

3) Seleccione los pocillos donde se colocará el tubo de PCR y seleccione su tipo de muestra en el menú desplegable **Sample Type (Tipo de Muestra)**.

- **Unknown (Desconocidos):** muestras clínicas
- **Negative Control (Control negativo)**
- **Positive Control (Control positivo)**

4) Haga clic en las casillas de verificación adecuadas (**FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 y Quasar 705**) para especificar los fluoróforos que se van a detectar en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y presione la tecla Intro.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal de **Plate Editor (Editor de placa)**, escoja **Plate Size (96 wells) (Tamaño de la placa (96 pocillos))** y **Plate Type (BR White) (Tipo placa (Blanco BR))**.

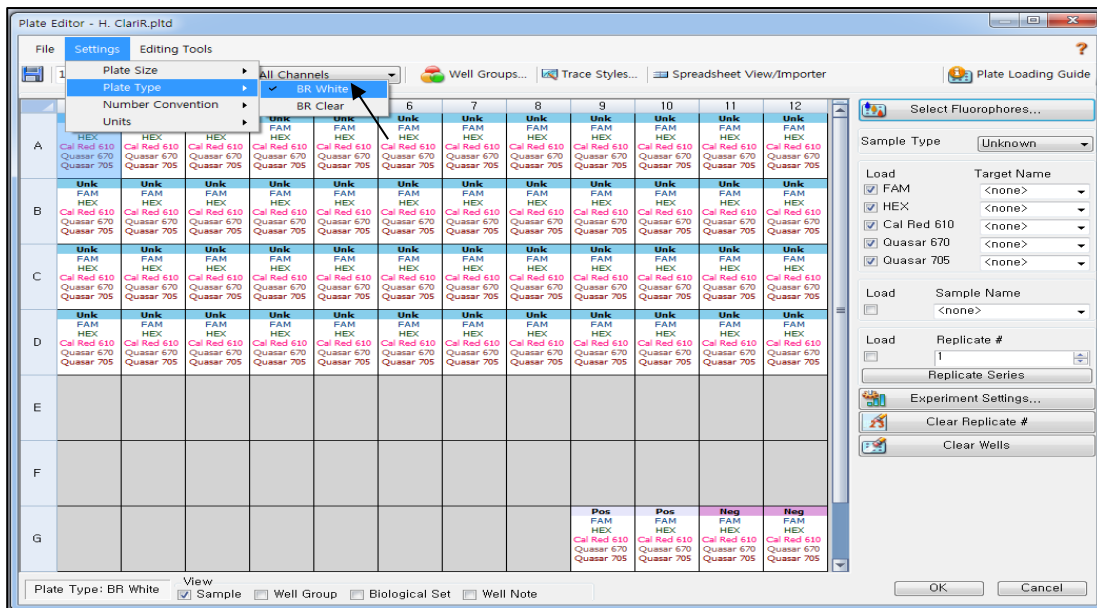


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

7) Haga clic en **OK (Aceptar)** para guardar la nueva placa.

Fernando Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
 APDORADA
 BioSystems S.A.

8) Regresará a la ventana **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**.

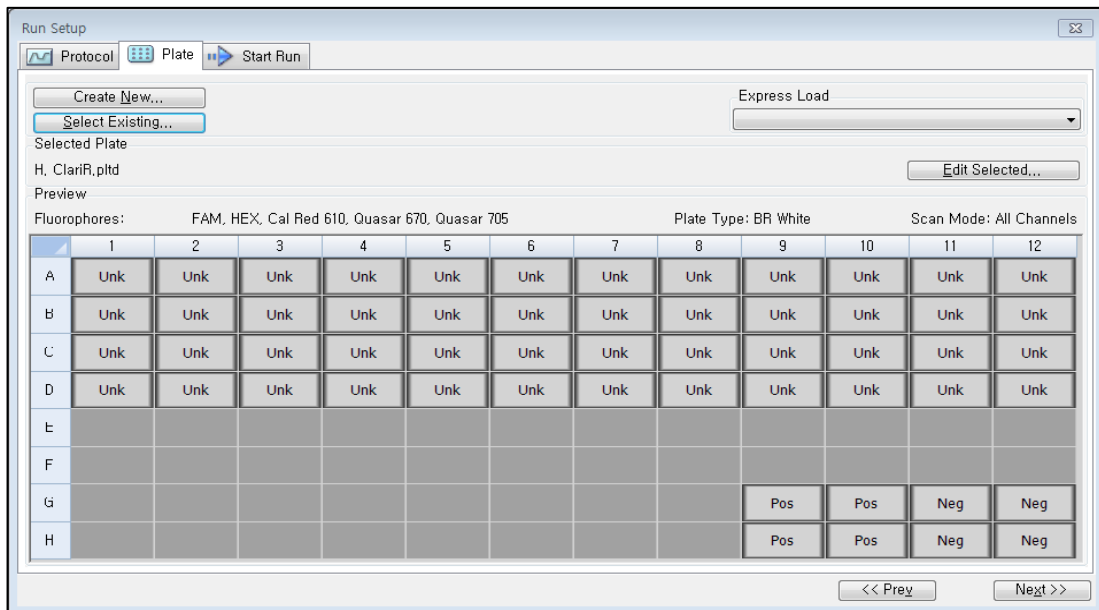


Fig. 7. **Run Setup (Configuración del Ejecutar): Plate (Placa)**

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para Start Run (Inicio del ciclo).

C. Start Run (Inicio del ciclo)

1) En la pestaña **Start Run (Inicio del ciclo)** en **Run Setup (Configuración del Ejecutar)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

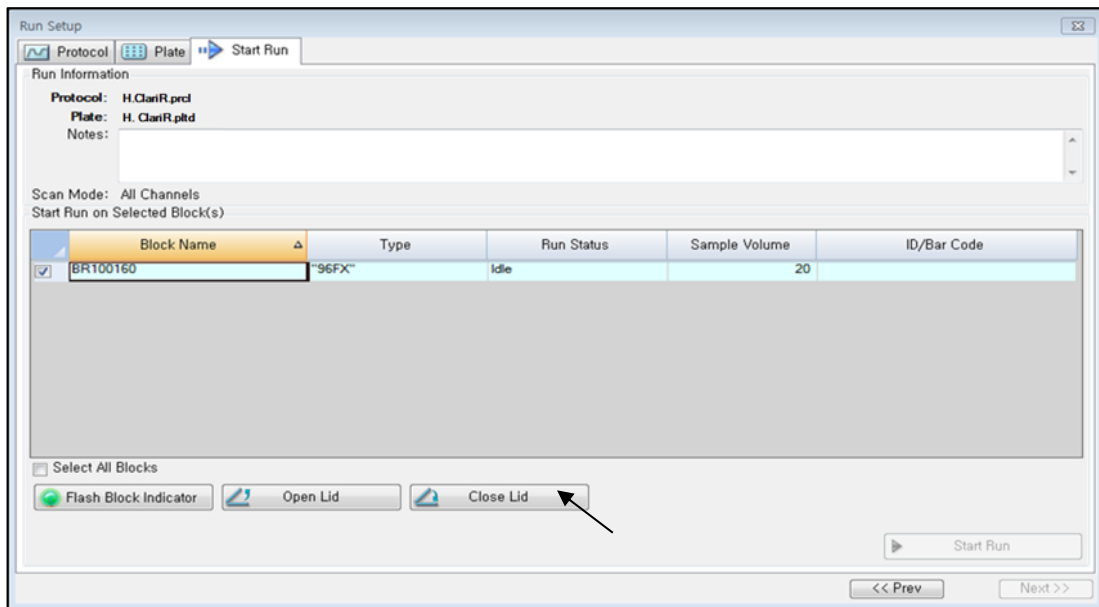


Fig. 8. **Close Lid (Cerrar tapa)**

2) Haga clic en **Start Run (Inicio del ciclo)**.

3) Almacene el archivo del ensayo en Mis documentos o en una carpeta que especifique. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará el ciclo.

1.2. Análisis de datos

A. Crear carpetas para exportar datos

1) Cree una carpeta para guardar los datos de todos los pasos de detección de las curvas de amplificación a partir del archivo de resultados.

2) El nombre de la carpeta puede ser la que desee el usuario (para la función 'Seegene Export' (Exportación de Seegene), se crearán automáticamente las carpetas "QuantStep3" para guardar los datos de cada curva de amplificación dentro de la carpeta que creó el usuario).

B. Configuración previa para el análisis CFX Manager™

1) Después del test, haga clic en la pestaña Quantitation (Cuantificación) para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

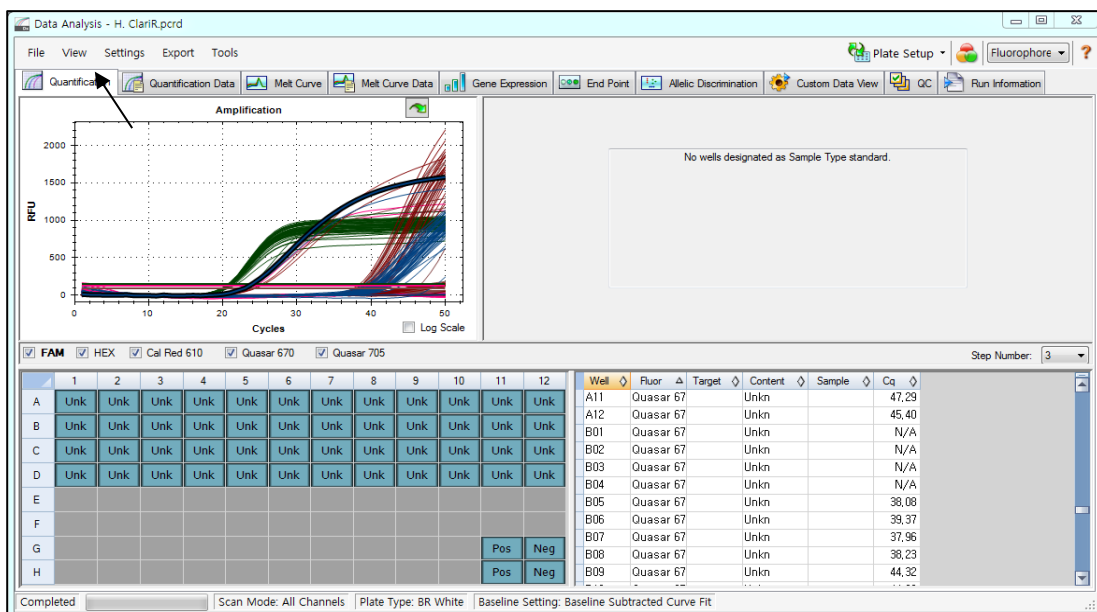


Fig. 9. Resultados de la curva de amplificación

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)** en el menú **Settings (Configuración)** de **Baseline Setting (Configuración de valor basal)**.

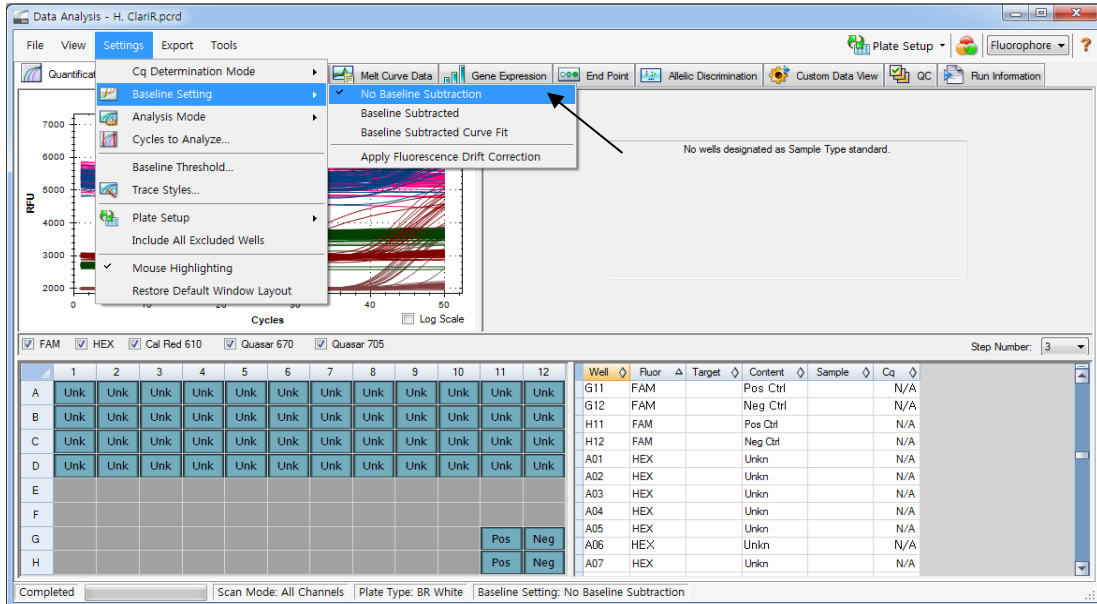


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (No sustraer línea base)**

3) Seleccione **Seegene Export (Exportación de Seegene)** en el menú **Export (Exportación)**.

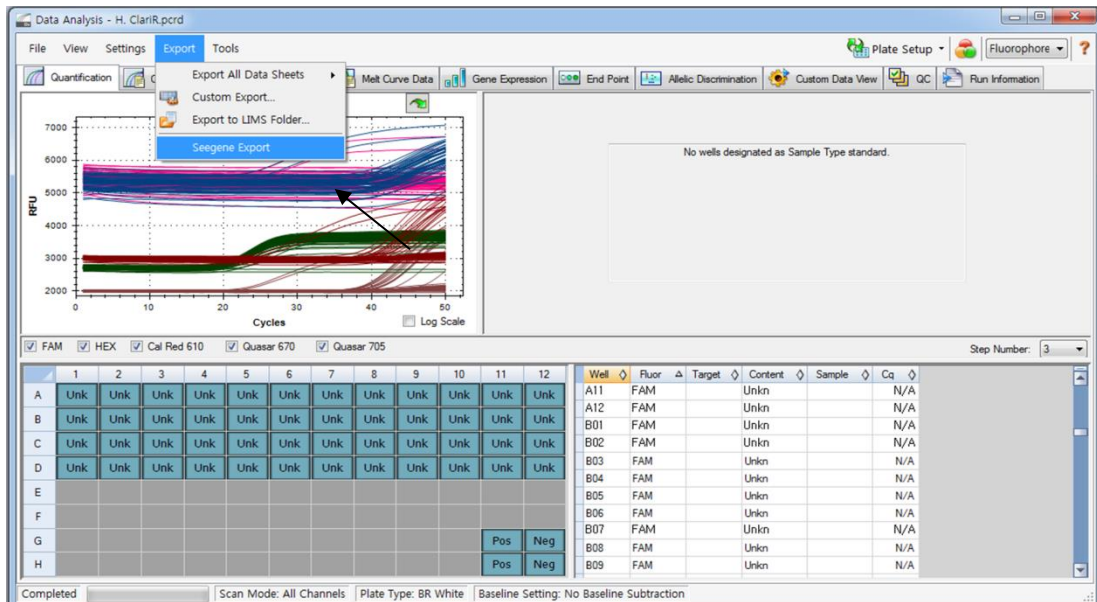


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17603

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Escoja una localización para guardar los datos y haga clic en **OK (Aceptar)**.

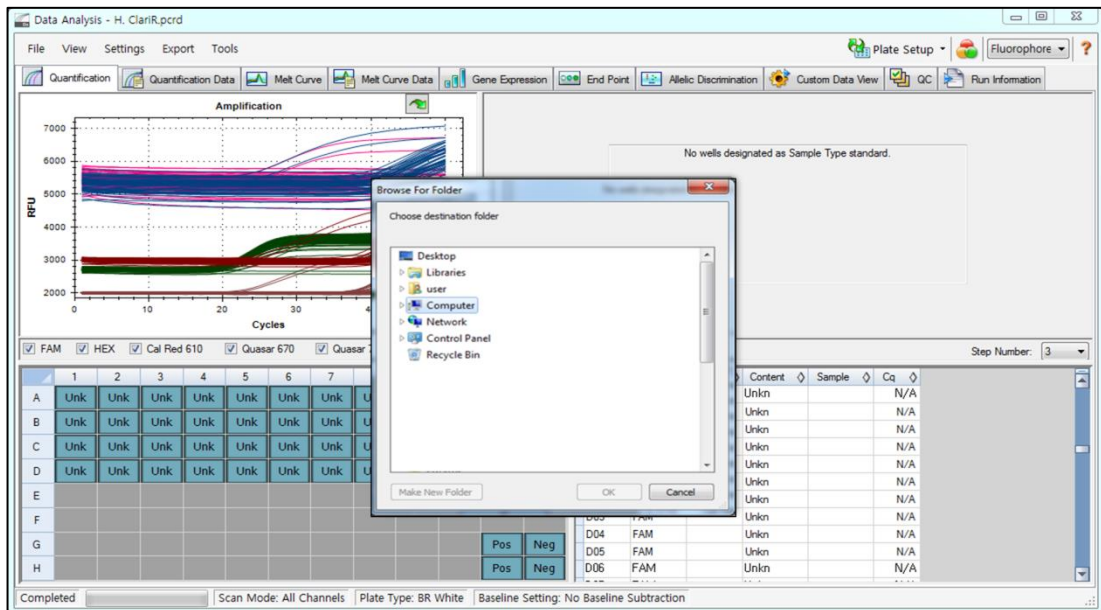


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta indicada

C. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

1) Abra el programa Seegene Viewer y haga clic en **Option (Opción)** para seleccionar **CFX96 Dx** en el **Instrument (Instrumento)**.

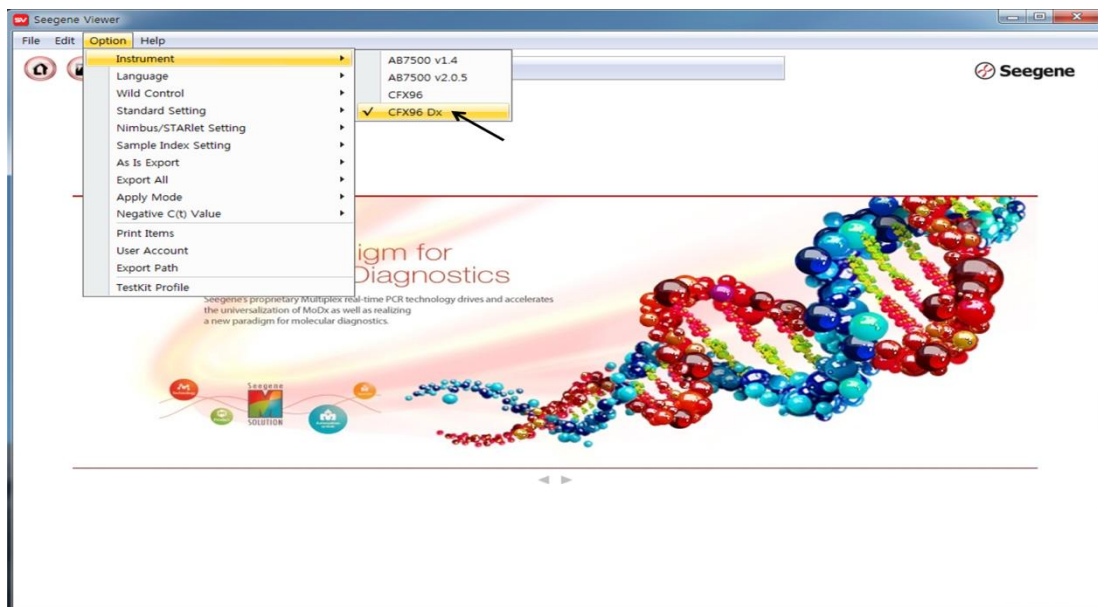


Fig. 13. Seegene Viewer

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Haga clic en **Open (Abrir)** para encontrar el archivo guardado en la carpeta "QuantStep3", abra el archivo de resultados y seleccione el kit de prueba en el menú **PRODUCT (PRODUCTO)**.

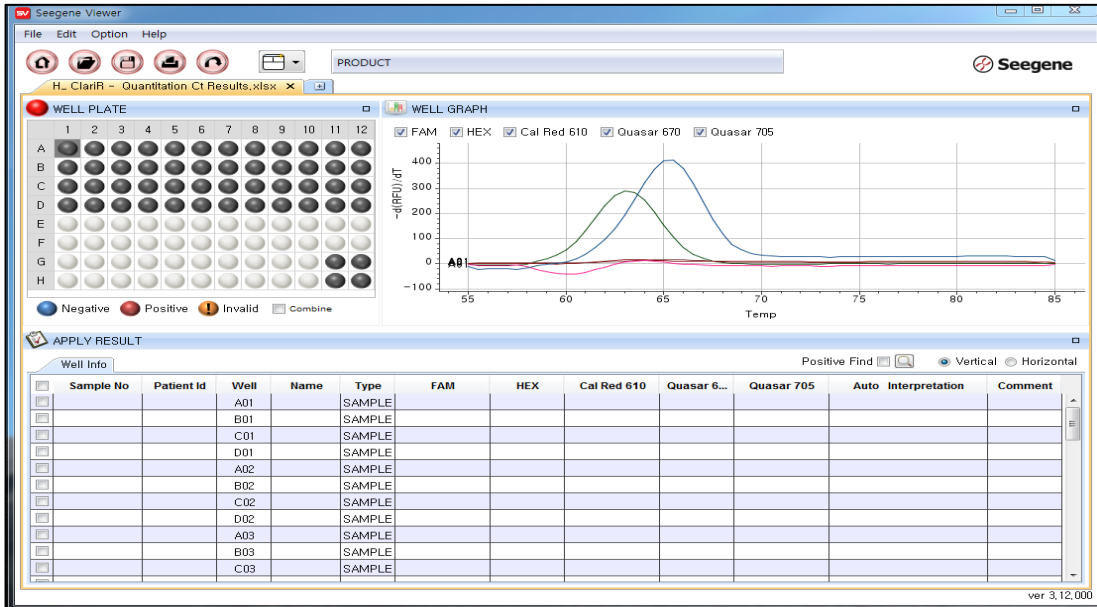


Fig. 14. Configuración del análisis de datos en Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

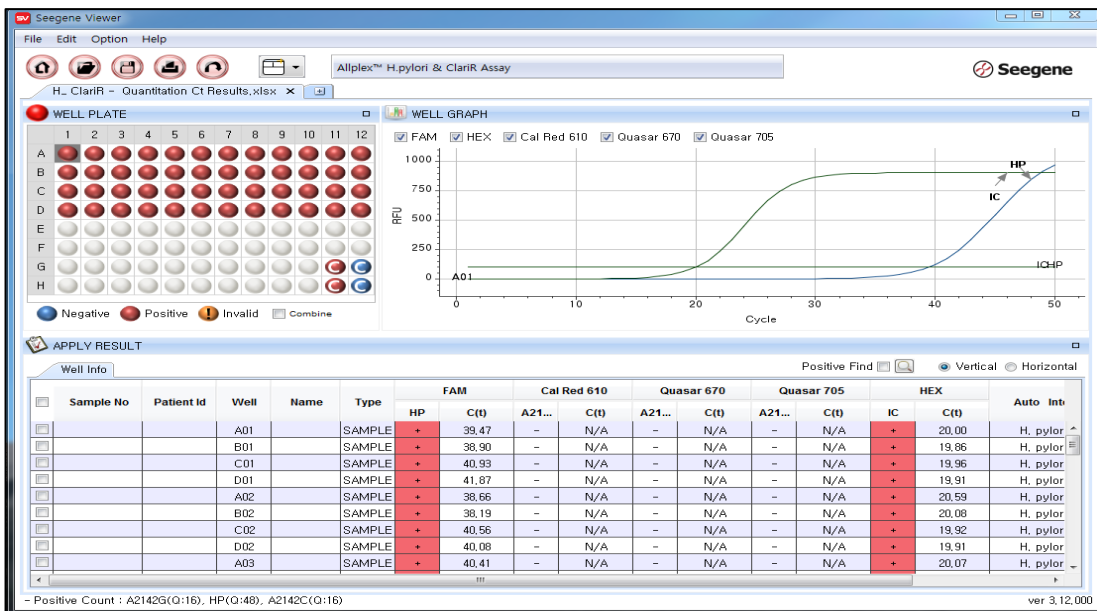


Fig. 15. Resultado del test en Seegene Viewer

Firm: Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

4) Criterios de validación de los resultados del control

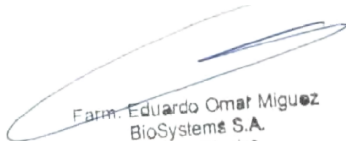
a. Inicio del ensayo válido

Para confirmar la validez del experimento, la reacción de PCR incluye PC (Control Positivo) y NC (Control Negativo). Se determina que el ciclo de ensayo es válido cuando se cumplen los siguientes criterios:

| Control | Resultado de Seegene Viewer | | | | | Interpretación automática |
|------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | FAM (C _t) | HEX (C _t) | Cal Red 610 (C _t) | Quasar 670 (C _t) | Quasar 705 (C _t) | |
| | HP | IC | A2143G | A2142G | A2142C | |
| Control Positivo | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | ≤ 50 | Control Positivo(+) |
| Control Negativo | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A | Control Negativo(-) |

b. Inicio de ensayo no válido

En los casos en los que no se consiga la validación, los resultados de la muestra no se deben interpretar ni notificar, y se deberá llevar a cabo el ciclo de nuevo.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



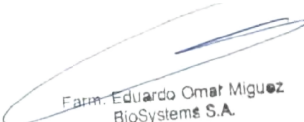
Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RESULTADOS
1. Información de los analitos

| Fluoróforo | Analito |
|-------------|-----------------------|
| FAM | <i>H. pylori</i> (HP) |
| HEX | Control Interno (IC) |
| Cal Red 610 | A2143G |
| Quasar 670 | A2142G |
| Quasar 705 | A2142C |

2. Interpretación de los resultados

| Analito | Valor C _t | Resultado |
|-----------|----------------------|------------------|
| Objetivos | ≤ 50 | Detectado (+) |
| | N/A | No detectado (-) |
| IC | ≤ 50 | Detectado (+) |
| | N/A | No detectado (-) |



Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

| Resultado IC | Resultado diana | | Interpretación |
|--------------|-----------------|------------------------|--|
| | <i>H.pylori</i> | Mutación del 23S rRNA* | |
| + | + | + | <i>H. pylori</i> y mutación del 23S rRNA detectado |
| | + | - | <i>H. pylori</i> detectado |
| | - | + | No válido ¹⁾ |
| | - | - | Ácido nucleico diana, no detectado |
| - | + | + | <i>H. pylori</i> y mutación del 23S rRNA detectado |
| | + | - | <i>H. pylori</i> detectado ²⁾ |
| | - | + | No válido ¹⁾ |
| | - | - | No válido ³⁾ |

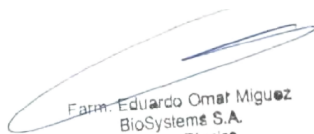
* La mutación del 23S rRNA incluye 2143G, 2142G y 2142C.

¹⁾ La repetición de la prueba se debe realizar con ácido nucleico original. Si se obtiene el mismo resultado, consulte los resultados de otros métodos de diagnóstico.

²⁾ *H. pylori* detectado. Pero se debe volver a realizar la prueba para confirmar la mutación del *H. pylori* resistente a la claritromicina. Si se obtiene el mismo resultado, intérpretele como "*H. pylori* detectado".

³⁾ Para la **muestra de biopsia gástrica**, los resultados sugieren una recolección inadecuada de la muestra, el procesamiento o la presencia de inhibidores. La nueva prueba debe realizarse con ácido nucleico original diluido 1/10~1/100. Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico diluido, repita la prueba de extracción de ácido nucleico utilizando otra alícuota de la muestra original.

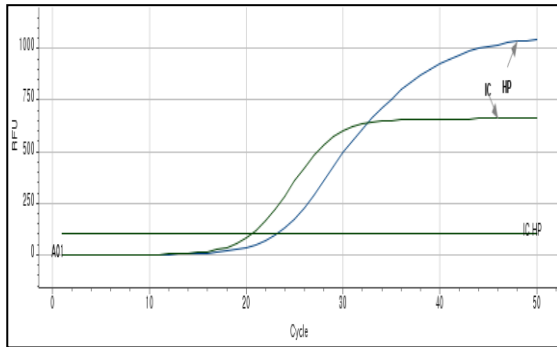
Para **muestras de heces humanas** los resultados sugieren procesos inadecuados (es decir, sin adición de IC exógeno) o presencia de inhibidores. Repita la prueba de la extracción de ácido nucleico utilizando otra alícuota de la muestra original. Si se muestra el mismo resultado en el ácido nucleico re-extraído, diluya (1/3~1/10) la muestra en tampón salino y repita la prueba de la extracción.


 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503

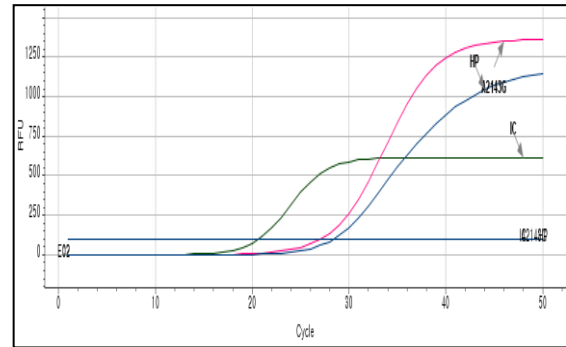

 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

3. Aplicación a muestras clínicas

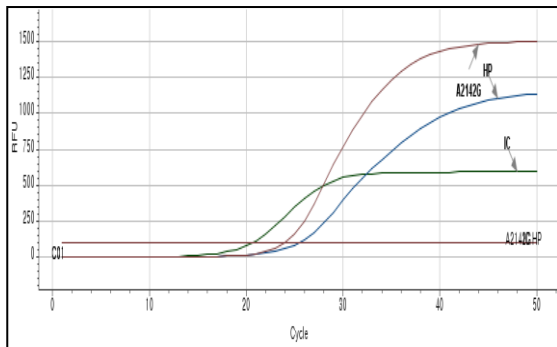
Muestra 1



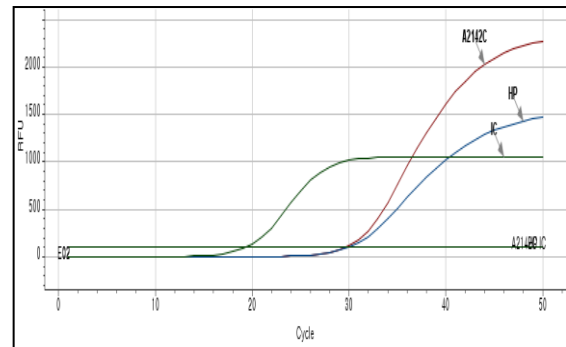
Muestra 2



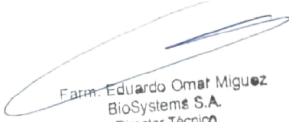
Muestra 3



Muestra 4



| Muestra | FAM | | Cal Red 610 | | Quasar 670 | | Quasar 705 | | HEX | | Interpretación automática |
|---------|-----|-------|-------------|-------|------------|-------|------------|-------|-----|-------|---------------------------|
| | HP | C(t) | A2143G | C(t) | A2142G | C(t) | A2142C | C(t) | IC | C(t) | |
| 1 | + | 23,16 | - | N/A | - | N/A | - | N/A | + | 20,59 | HP |
| 2 | + | 28,47 | + | 27,13 | - | N/A | - | N/A | + | 20,73 | HP, A2143G |
| 3 | + | 25,51 | - | N/A | + | 24,01 | - | N/A | + | 20,68 | HP, A2142G |
| 4 | + | 29,99 | - | N/A | - | N/A | + | 29,73 | + | 19,38 | HP, A2142C |


 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARIANA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

| Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | | |
|---|---|--|
| OBSERVACIONES | POSIBLES CAUSAS | SOLUCIÓN |
| No se observa señal | Los fluoróforos para el análisis de datos no cumplen con el protocolo. | Seleccionar los fluoróforos correctos para el análisis de datos. |
| | Configuración incorrecta del termociclador en tiempo real | Compruebe las condiciones del ciclo térmico y repita el test con la configuración adecuada. |
| | Almacenamiento incorrecto o posterior a la fecha de caducidad del kit del test. | Compruebe las condiciones de almacenamiento (véase página 10) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit del test y use un nuevo kit si fuese necesario. |
| | Fallo en la extracción de ácido nucleico | Si se añadió el IC a la muestra antes de la extracción, la ausencia de señal de IC puede indicar una pérdida de ácido nucleico durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de extracción recomendado. Si es debido a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra original (Biopsia gástrica, Heces humanas) o puede diluir la muestra en un tampón de solución salina 1/3~1/10 veces y luego añadir H.ClariR IC a la muestra diluida. |
| No se observa señal de Control Interno | Alta carga de ácido nucleico del patógeno | Si se observa la señal del patógeno diana, pero no la del IC, entonces la amplificación del IC pudo haberse inhibido por una alta carga del patógeno objetivo. Para confirmar la señal del IC, diluya la muestra (Biopsia gástrica, 1/10~1/100) en agua esterilizada o diluir la muestra (Heces humanas, 1/3~1/10) en un tampón de solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción. |
| | Presencia de inhibidor PCR | Vuelva a extraer la muestra original (biopsia gástrica) o dilúyala (heces humanas, 1/3~1/10) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción. |

| Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | | |
|--|--|---|
| OBSERVACIONES | POSIBLES CAUSAS | SOLUCIÓN |
| Se observan supuestos falsos positivos o señales diana en el Control Negativo | Contaminación | Descontamine todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Use solo puntas de filtro durante el procedimiento y cámbielas entre cada tubo. Repita el procedimiento entero desde la extracción de ácido nucleico con el nuevo conjunto de reactivos. |
| No se observan señales o supuestos falsos negativos en el Control Positivo | Error en la recogida de muestras | Compruebe el método de recogida de la muestra y vuelva a recogerla. |
| | Almacenamiento incorrecto de la muestra | Vuelva a recoger la muestra y repita el procedimiento entero. Asegúrese de que la muestra se almacena de la manera recomendada. |
| | Error en la extracción de ácido nucleico | Compruebe el procedimiento de extracción del ácido nucleico así como la concentración de ácido nucleico, y vuelva a extraerlo. |
| | Error al añadir ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes | Compruebe los números de muestra de los tubos que contienen el ácido nucleico y asegúrese de añadir ácido nucleico a los tubos de PCR adecuados. Repita cuidadosamente la prueba si fuese necesario. |
| | Presencia de inhibidor | Por favor, vuelva a extraer la muestra original (biopsia gástrica) o dilúyala (heces humanas, 1/3~1/10) en solución salina y repita la prueba desde el paso de extracción. |
| | Mezcla de PCR incorrecta | Confirme que todos los componentes se añadan a la mezcla de PCR (la sensibilidad puede verse afectada por las premezclas anteriormente realizadas). Deben homogeneizarse todos los reactivos y centrifugarse antes de usar. |
| Picos en los ciclos de la curva de amplificación | Burbujas en el tubo de PCR | Centrifugue el tubo de PCR antes del inicio. |

RENDIMIENTO
1. Especificidad

Se probó la reactividad cruzada de Allplex™ H.pylori & ClariR Assay utilizando 184 materiales y organismos estándar, como se indica a continuación. Allplex™ H.pylori & ClariR Assay identificó dianas específicas, diseñadas para la detección.

| N.º | Organismo | Fuente | Aislado Núm. | Resultado † |
|-----|--|-------------------------|--------------|-----------------------------|
| 1 | <i>Helicobacter pylori</i> | ZMC | 804383 | <i>H. pylori</i> |
| 2 | <i>Helicobacter pylori</i> -2143G | Recombinant plasmid DNA | | <i>H.pylori</i> , A2143G |
| 3 | <i>Helicobacter pylori</i> -2142G | Recombinant plasmid DNA | | <i>H.pylori</i> , A2142G |
| 4 | <i>Helicobacter pylori</i> -2142C | Recombinant plasmid DNA | | <i>H.pylori</i> , A2142C |
| 5 | <i>Campylobacter coli</i> | KCTC | 15212 | No detectado |
| 6 | <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i> | ATCC | 27374 | No detectado |
| 7 | <i>Campylobacter jejuni</i> | KCTC | 5327 | No detectado |
| 8 | <i>Campylobacter lari</i> | ATCC | 35223 | No detectado |
| 9 | <i>Candida albicans</i> | KCCM | 11282 | No detectado |
| 10 | <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC | 11700 | No detectado |
| 11 | <i>Escherichia coli</i> | KCCM | 11591 | No detectado |
| 12 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | KCCM | 40890 | No detectado |
| 13 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | KCCM | 11328 | No detectado |
| 14 | <i>Staphylococcus aureus</i> | KCTC | 1621 | No detectado |
| 15 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | KCCM | 35494 | No detectado |
| 16 | <i>Helicobacter canadensis</i> | ATCC | 700968 | No detectado |
| 17 | <i>Helicobacter cinaedi</i> | ATCC | BAA-76 | No detectado |
| 18 | <i>Helicobacter felis</i> | ATCC | 49179 | No detectado |
| 19 | <i>Helicobacter fennelliae</i> | ATCC | 35684 | No detectado |
| 20 | <i>Helicobacter hepaticus</i> | ATCC | 51449 | No detectado |
| 21 | <i>Proteus mirabilis</i> | KCTC | 2510 | No detectado |
| 22 | <i>Proteus vulgaris</i> | KCCM | 40211 | No detectado |
| 23 | Adenovirus 40 | ATCC | VR931 | No detectado |
| 24 | Adenovirus 41 | KCTC | VR930 | No detectado |
| 25 | Adenovirus type 1 | QCMD | ADV13-03 | No detectado |
| 26 | Adenovirus type 18 | ATCC | VR-1095 | No detectado |

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

| N.º | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|---|--------|--------------|--------------|
| 27 | Adenovirus type 23 | ATCC | VR-1101 | No detectado |
| 28 | Adenovirus type 4 | QCMD | ADV13-09 | No detectado |
| 29 | Adenovirus type 5 | QCMD | ADV13-08 | No detectado |
| 30 | Adenovirus type 8 | ATCC | VR-1368 | No detectado |
| 31 | Adenovirus type1 Adenoid 71 | ATCC | VR-1 | No detectado |
| 32 | Adenovirus type 14 | QCMD | ADV13-04 | No detectado |
| 33 | <i>Aeromonas caviae</i> | ATCC | 15468 | No detectado |
| 34 | <i>Aeromonas hydrophila</i> (ATCC 7966) | KCTC | 2358 | No detectado |
| 35 | <i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>masoucida</i> (ATCC 27013) | KCCM | 40239 | No detectado |
| 36 | <i>Aeromonas veronii</i> bv <i>sobria</i> | ATCC | 9071 | No detectado |
| 37 | <i>Aeromonas veronii</i> bv <i>veronii</i> | ATCC | 35623 | No detectado |
| 38 | <i>Alcaligenes faecalis</i> (ATCC 8750) | KCTC | 2678 | No detectado |
| 39 | <i>Astrovirus</i> | QCMD | GastroV13-03 | No detectado |
| 40 | <i>Atopobium vaginae</i> | ATCC | BAA-55 | No detectado |
| 41 | <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 9634) | KCTC | 1012 | No detectado |
| 42 | <i>Bacteroides fragilis</i> | ZMC | 306850 | No detectado |
| 43 | <i>Bacteroides uniformis</i> (ATCC 8492) | KCTC | 5204 | No detectado |
| 44 | <i>Bifidobacterium adolescentis</i> (ATCC 15703) | KCCM | 11206 | No detectado |
| 45 | <i>Bifidobacterium longum</i> (ATCC 15707) | KCCM | 11953 | No detectado |
| 46 | <i>Campylobacter coli</i> (ATCC 33559) | KCTC | 15212 | No detectado |
| 47 | <i>Campylobacter curvus</i> (ATCC 35224) | KCTC | 15196 | No detectado |
| 48 | <i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i> (ATCC 35217) | KCTC | 15207 | No detectado |
| 49 | <i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> (ATCC 33560) | KCTC | 5327 | No detectado |
| 50 | <i>Campylobacter rectus</i> | KCTC | 5636 | No detectado |
| 51 | <i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>sputorum</i> (ATCC 35980) | KCTC | 15215 | No detectado |
| 52 | <i>Campylobacter upsaliensis</i> (ATCC 43954) | KCTC | 15213 | No detectado |
| 53 | <i>Candida albicans</i> | ZMC | 309980 | No detectado |
| 54 | <i>Candida glabrata</i> | ATCC | 36909D | No detectado |
| 55 | <i>Candida guilliemondii</i> Z008 | ZMC | 306660 | No detectado |
| 56 | <i>Candida krusei</i> | ATCC | 200339D | No detectado |
| 57 | <i>Candida lusitaniae</i> Z010 | ZMC | 306661 | No detectado |
| 58 | <i>Candida parapsilosis</i> Z011 | ZMC | 306945 | No detectado |
| 59 | <i>Candida tropicalis</i> Z012 | ZMC | 306932 | No detectado |

| N.º | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|--|--------|--------------|--------------|
| 60 | <i>Chlamydia trachomatis</i> | ATCC | VR-902B | No detectado |
| 61 | <i>Clostridium acetobutylicum</i> (ATCC 4259) | KCTC | 1037 | No detectado |
| 62 | <i>Clostridium baratii</i> (ATCC 27638) | KCTC | 5131 | No detectado |
| 63 | <i>Clostridium beijerinckii</i> (ATCC 8260) | KCTC | 2203 | No detectado |
| 64 | <i>Clostridium bifermentans</i> | KCTC | 5393 | No detectado |
| 65 | <i>Clostridium chauvoei</i> (ATCC 10092) | KCTC | 5571 | No detectado |
| 66 | <i>Clostridium difficile</i> (non-toxigenic) | ATCC | 43593 | No detectado |
| 67 | <i>Clostridium difficile</i> NAP1 | ATCC | BAA-1805 | No detectado |
| 68 | <i>Clostridium ghonii</i> | KCTC | 5329 | No detectado |
| 69 | <i>Clostridium innocuum</i> (ATCC 14501) | KCTC | 5183 | No detectado |
| 70 | <i>Clostridium nexile</i> (ATCC 27757) | KCTC | 5578 | No detectado |
| 71 | <i>Clostridium paraputrificum</i> (ATCC 25780) | KCTC | 5331 | No detectado |
| 72 | <i>Clostridium septicum</i> | KCTC | 5695 | No detectado |
| 73 | <i>Clostridium sphenoides</i> (ATCC 19403) | KCTC | 5653 | No detectado |
| 74 | <i>Cryptosporidium muris</i> | ATCC | 87666 | No detectado |
| 75 | Cytomegalovirus (AD169) | NIBSC | 09/162 | No detectado |
| 76 | <i>Entamoeba dispar</i> | ATCC | PRA-260 | No detectado |
| 77 | <i>Enterococcus avium</i> | KCTC | 5190 | No detectado |
| 78 | <i>Enterococcus casseliflavus</i> | KCCM | 40712 | No detectado |
| 79 | <i>Enterococcus durans</i> (ATCC 19432) | KCCM | 40711 | No detectado |
| 80 | <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC | 51299 | No detectado |
| 81 | <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC | 51559 | No detectado |
| 82 | <i>Enterococcus gallinarum</i> | ATCC | BAA-748 | No detectado |
| 83 | <i>Enterococcus hirae</i> (ATCC 8043) | KCCM | 12216 | No detectado |
| 84 | Enterovirus (Type 71) | ZMC | 308539 | No detectado |
| 85 | Epstein-Barr virus (B95-8 strain) | ZMC | 309068 | No detectado |
| 86 | <i>Escherichia coli</i> | KCCM | 11591 | No detectado |
| 87 | <i>Escherichia coli</i> O:H48 | KCCM | 41957 | No detectado |
| 88 | <i>Escherichia coli</i> O1:K1:H7 (ATCC 11775) | KCCM | 12451 | No detectado |
| 89 | <i>Escherichia coli</i> O157 | NCCP | 11142 | No detectado |

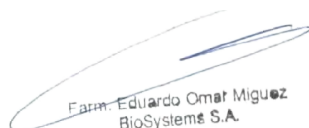
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dr. MARINA VILA PEREZ
APROBADA

| N.º | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|---|--------|--------------|--------------|
| 90 | <i>Escherichia coli</i> O55:K59(B5):H- (ATCC 12014) | KCCM | 41290 | No detectado |
| 91 | <i>Escherichia coli</i> O6:H1 (ATCC 25922) | KCCM | 11234 | No detectado |
| 92 | <i>Escherichia coli</i> O78:K80:H12 (ATCC 43896) | KCCM | 40405 | No detectado |
| 93 | <i>Escherichia hermanii</i> (ATCC 33650) | KCTC | 22526 | No detectado |
| 94 | <i>Gardnerella vaginalis</i> | ATCC | 14018 | No detectado |
| 95 | Hepatitis A virus (HAV) | ATCC | VR-1402 | No detectado |
| 96 | Hepatitis B virus-a (HBV genotype a) | BBI | PHD350-05 | No detectado |
| 97 | Hepatitis B virus-b (HBV genotype b) | BBI | PHD350-14 | No detectado |
| 98 | Hepatitis B virus-c (HBV genotype c) | BBI | PHD350-04 | No detectado |
| 99 | Hepatitis C virus (HCV) | BBI | A306-6515 | No detectado |
| 100 | HSV-1(Macintyre; VR-539) | ZMC | 308202 | No detectado |
| 101 | HSV-2(MS; VR-540) | ZMC | 308203 | No detectado |
| 102 | Human Herpes 6B virus (Z29 strain) | ZMC | 309266 | No detectado |
| 103 | Human Herpes 7 virus (SB strain) | ZMC | 306938 | No detectado |
| 104 | Human Papilloma virus-16 (Caski) | QCMD | HPV12-07 | No detectado |
| 105 | Human Papilloma virus-18 (Hela) | QCMD | HPV12-08 | No detectado |
| 106 | <i>Klebsiella oxytoca</i> | ATCC | 700324D | No detectado |
| 107 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 15380) | KCTC | 2952 | No detectado |
| 108 | <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356) | KCCM | 32820 | No detectado |
| 109 | <i>Lactobacillus casei</i> (ATCC 393) | KCCM | 12452 | No detectado |
| 110 | <i>Lactobacillus crispatus</i> | ATCC | 25258 | No detectado |
| 111 | <i>Lactobacillus gasseri</i> | ATCC | 33323 | No detectado |
| 112 | <i>Lactobacillus jensenii</i> | ATCC | 33820 | No detectado |
| 113 | <i>Lactobacillus reuteri</i> (ATCC 23272) | KCCM | 40717 | No detectado |
| 114 | <i>Mobiluncus curtisii</i> | ATCC | 35241 | No detectado |
| 115 | <i>Mycoplasma genitalium</i> | ATCC | 33530D | No detectado |
| 116 | <i>Mycoplasma hominis</i> (ATCC 23114) | ZMC | 307435 | No detectado |
| 117 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | ZMC | 305345 | No detectado |
| 118 | <i>Neisseria meningitidis</i> | ATCC | 700532D | No detectado |
| 119 | Norovirus-GI | ATCC | VR-3199SD | No detectado |
| 120 | Norovirus-GII | ATCC | VR-3200SD | No detectado |
| 121 | Norovirus-GI.3 | QCMD | NV13-06 | No detectado |
| 122 | Norovirus-GI.7 | QCMD | NV13-09 | No detectado |

| N.º | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|---|-----------------|----------------|--------------|
| 123 | Norovirus-GI.8 | QCMD | NV13-12 | No detectado |
| 124 | Norovirus-GII.4 | QCMD | NV13-10 | No detectado |
| 125 | Norovirus-GII.b | QCMD | NV13-08 | No detectado |
| 126 | <i>Parabacteroides distasonis</i> (ATCC 8503) | KCTC | 5751 | No detectado |
| 127 | <i>Pentatrichomonas hominis</i> | ATCC | 30000 | No detectado |
| 128 | <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (ATCC 27337) | KCTC | 5182 | No detectado |
| 129 | Rotavirus | QCMD | GastroV13-06 | No detectado |
| 130 | Rotavirus G1P4 | WAVA | Rotavirus G1P4 | No detectado |
| 131 | Rotavirus G1P6 | WAVA | Rotavirus G1P6 | No detectado |
| 132 | Rotavirus G1P8 | WAVA | Rotavirus G1P8 | No detectado |
| 133 | Rotavirus G2P4 | WAVA | Rotavirus G2P4 | No detectado |
| 134 | Rotavirus G3P6 | WAVA | Rotavirus G3P6 | No detectado |
| 135 | Rotavirus G3P8 | WAVA | Rotavirus G3P8 | No detectado |
| 136 | Rotavirus G3P9 | WAVA | Rotavirus G3P9 | No detectado |
| 137 | Rotavirus G4P6 | WAVA | Rotavirus G4P6 | No detectado |
| 138 | Rotavirus G9P6 | WAVA | Rotavirus G9P6 | No detectado |
| 139 | Rotavirus G9P8 | WAVA | Rotavirus G9P8 | No detectado |
| 140 | Rubella virus | ZMC | 306675 | No detectado |
| 141 | <i>Salmonella bongori</i> (ATCC 43975) | KCCM | 41758 | No detectado |
| 142 | <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i> (ATCC 12324) | KCCM | 41575 | No detectado |
| 143 | <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi C | KCCM | 41577 | No detectado |
| 144 | <i>Salmonella enteritidis</i> (IFO 3313) | KCCM | 12021 | No detectado |
| 145 | <i>Salmonella houtenae</i> | KCTC | 12399 | No detectado |
| 146 | <i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 14028) | KCCM | 11806 | No detectado |
| 147 | Sapovirus G1 | Cultivo coreano | | No detectado |
| 148 | Sapovirus G2 | Cultivo coreano | | No detectado |
| 149 | Sapovirus G4 | Cultivo coreano | | No detectado |
| 150 | <i>Serratia marcescens</i> | ATCC | 14041 | No detectado |
| 151 | <i>Serratia marcescens</i> (ATCC 27117) | KCCM | 40105 | No detectado |
| 152 | <i>Shigella boydii</i> (ATCC 8700) | KCCM | 41649 | No detectado |
| 153 | <i>Shigella dysenteriae</i> | NCCP | 14746 | No detectado |
| 154 | <i>Shigella flexneri</i> (ATCC 11836) | KCCM | 11937 | No detectado |
| 155 | <i>Shigella sonnei</i> (ATCC 11060) | KCCM | 11903 | No detectado |

| N.º | Organismo | Fuente | Aislado núm. | Resultado † |
|-----|--|--------|--------------|--------------|
| 156 | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> (ATCC 29970) | KCTC | 3341 | No detectado |
| 157 | <i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i> | KCTC | 3343 | No detectado |
| 158 | <i>Staphylococcus lugdunensis</i> | ATCC | 43809D | No detectado |
| 159 | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (ATCC 15305) | KCTC | 3345 | No detectado |
| 160 | <i>Streptococcus mitis</i> | ZMC | 306837 | No detectado |
| 161 | <i>Streptococcus mutans</i> Z072 | ZMC | 307290 | No detectado |
| 162 | <i>Streptococcus oralis</i> (ATCC 35037) | KCTC | 13048 | No detectado |
| 163 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> 19F | ZMC | 307676 | No detectado |
| 164 | <i>Streptococcus pyogenes</i> Rosenbach (ATCC 19615) | KCTC | 40411 | No detectado |
| 165 | <i>Toxoplasma gondii</i> | ZMC | 315153 | No detectado |
| 166 | <i>Trichomonas tenax</i> | ATCC | 30207 | No detectado |
| 167 | <i>Trichomonas vaginalis</i> (ATCC 30238) | ZMC | 309167 | No detectado |
| 168 | <i>Ureaplasma parvum</i> | ATCC | 27815 | No detectado |
| 169 | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | ATCC | 33695 | No detectado |
| 170 | <i>Varicella Zoster virus</i> | ZMC | 810168 | No detectado |
| 171 | <i>Vibrio albensis</i> (ATCC 14547) | KCTC | 12321 | No detectado |
| 172 | <i>Vibrio alginolyticus</i> (ATCC 17749) | KCCM | 40513 | No detectado |
| 173 | <i>Vibrio cholerae</i> Z132 | ZMC | 801901 | No detectado |
| 174 | <i>Vibrio cincinnatiensis</i> (ATCC 35912) | KCTC | 2733 | No detectado |
| 175 | <i>Vibrio fluvialis</i> (ATCC 33809) | KCCM | 40827 | No detectado |
| 176 | <i>Vibrio furnissii</i> (ATCC 35016) | KCCM | 41679 | No detectado |
| 177 | <i>Vibrio hollisae</i> (ATCC 33564) | KCCM | 41680 | No detectado |
| 178 | <i>Vibrio mediterranei</i> (ATCC 43341) | KCTC | 2735 | No detectado |
| 179 | <i>Vibrio mimicus</i> (ATCC 33653) | KCCM | 40826 | No detectado |
| 180 | <i>Vibrio nereis</i> (ATCC 25917) | KCTC | 2722 | No detectado |
| 181 | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (ATCC 17802) | KCCM | 11965 | No detectado |
| 182 | <i>Vibrio splendidus</i> (ATCC 33125) | KCTC | 12679 | No detectado |
| 183 | <i>Vibrio vulnificus</i> (ATCC 27562) | KCCM | 41665 | No detectado |
| 184 | <i>Yersinia enterocolitica</i> (ATCC 23715) | KCCM | 41657 | No detectado |


 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

† Los tests especificados se repitieron 3 veces.

- ※ ATCC: American Type Culture Collection
- BBI: BBI Solutions
- KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
- KCTC: Korean Collection for Type Culture
- NCCP: National Culture Collection for Pathogens
- NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control
- QCMD: Quality Control for Molecular Diagnostics
- WAVA: Waterborne Virus Bank
- ZMC: ZeptoMetrix Corporation

2. Sensibilidad

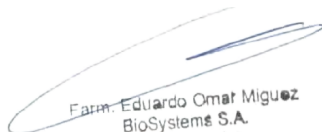
La sensibilidad se define como la concentración más baja de organismo que se puede detectar consistentemente ($\geq 95\%$ de los resultados positivos entre todas las muestras analizadas). Se confirmó cuando se obtuvieron los resultados correctos de organismo/ensayo de al menos 24 de las 24 muestras ($24/24 = 100\%$) evaluadas.

La sensibilidad de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay se determinó utilizando muestras adulteradas de DNA plasmídico diana (de 10^7 a 10^0 copias/reacción). El límite de detección para el Allplex™ H. pylori & ClariR Assay fue de 50 copias/reacción para *H. pylori* y 100 copias/reacción para la mutación del 23S rRNA (A2143G, A2142G y A2142C).


3. Repetibilidad

La prueba de repetibilidad de una muestra negativa y 12 analitos simulados se preparó con muestras muy negativas (0,1X LoD), débilmente positivas (1X LoD) y moderadamente positivas (3X LoD). El panel se probó durante veinte días, dos corridas por día por dos operadores diferentes con un solo lote y triplicado de cada panel por corrida desde una extracción. Se observaron las tasas positivas para cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,0% para muestras positivas moderadas, 100% para muestras positivas bajas y menos de 71,67% para muestras negativas altas.

Los resultados confirman los rendimientos repetibles del Allplex™ H. pylori & ClariR Assay.



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4. Reproducibilidad

Se preparó el panel de reproducibilidad de 12 analitos simulados que incluía muestras muy negativas (0,1X LoD), poco positivas (1X LoD) y ligeramente positivas (3X LoD). En cada centro de pruebas se analizó el panel durante cinco días, dos operadores diferentes llevaron a cabo dos ciclos cada día y triplicaron el ciclo de cada panel a partir de una extracción. Se analizó con un único lote de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay en tres centros diferentes y con tres lotes en un centro interno. Se observaron tasas positivas de cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,0% de muestras ligeramente positivas, ≥100% de muestras poco positivas y ≥ 86,67% de muestras muy negativas.

Los resultados confirman los rendimientos reproducibles de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay.

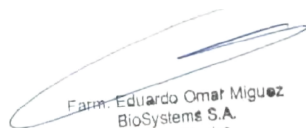
5. Sustancias interferentes

Esta prueba se llevó a cabo usando sustancias interferentes compuestas por 13 sustancias para confirmar el rendimiento de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay en la presencia de potenciales sustancias interferentes. El resultado no se vio afectado al añadir las sustancias: ni detección no específica ni inhibición en la amplificación objetiva. Teniendo en cuenta los resultados, las 13 sustancias interferentes no afectaron los resultados de Allplex™ H. pylori & ClariR Assay.

| N.º | Sustancias interferentes | Concentración |
|-----|---|---------------|
| 1 | Amoxicillin | 206 µmol/L |
| 2 | Barium sulfate | 5 mg/ml |
| 3 | Bilirubin | 342 µmol/L |
| 4 | Bismuth Subsalicylate (pepto-Bismol) | 0,175 mg/ml |
| 5 | Cimetidine (Tagamet) | 79,2 µmol/L |
| 6 | Clarithromycin | 26,7 µmol/L |
| 7 | Hemoglobin human | 2 g/L |
| 8 | Metronidazole | 701 µmol/L |
| 9 | Mucin (bovine submaxillary gland, type I-S) | 3 mg/ml |
| 10 | Omeprazole (prilosec OTC) | 17,4 µmol/L |
| 11 | Palmitic Acid | 6 mmol/L |
| 12 | Stearic acid | 0,4 mmol/L |
| 13 | Triglyceride (Intralipid) | 37 mmol/L |

REFERENCIAS

1. D. H. Lee. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] Seegene Bulletin. (2012) 1: 5-10
2. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] Seegene Bulletin. (2012) 1: 1-4
3. J. Y. Chun, K. J. Kim, I. T. Hwang, Y. J. Kim, D. H. Lee, I. K. Lee, and J. K. Kim. [Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene.] Nucleic Acids Research. (2007) 35: e40
4. Y. J. Lee, D. Y. Kim, K. H. Kim, and J. Y. Chun. [Single-channel multiplexing without melting curve analysis in real-time PCR.] Scientific Reports. (2014) 4:7439
5. Alba E. Vega, Teresa Alarcón, Diego Domingo and Manuel López-Brea. [Detection of clarithromycin-resistant Helicobacter pylori in frozen gastric biopsies from pediatric patients by a commercially available fluorescent in situ hybridization.] Diagn Microbiol Infect Dis. 2007. Dec;59(4):421-423.
6. De Vries AC, Kuipers EJ. [Helicobacter pylori eradication for the prevention of gastric cancer.] Aliment Pharmacol Ther. 2007. Dec 26;Suppl 2:25-35.
7. Lgor A. Prokhorenko, Andrei D. Malakhov, Anna A. Kozlova, Kuvat Momynaliev, Vadim M. Govorun and Vladimir A. Korshun [Phenylethynylpyrene-labeled oligonucleotide probes for excimer fluorescence SNP analysis of 23S rRNA gene in clarithromycin-resistant Helicobacter pylori strains.] Mutat Res. 2006. Jul;599(1-2):144-151.
8. Cocchiara G, Romano M, Buscemi G, Maione C, Maniaci S, Romano G. [Advantage of Eradication Therapy for Helicobacter pylori Before Kidney Transplantation in Uremic Patients.] Transplant Proc. 2007. Dec;39(10):3041-3043.
9. Kist M. [Helicobacter pylori: primary antimicrobial resistance and first-line treatment strategies.] Euro Surveill. 2007. Jul 1;12(7):E1-2.
10. Elviss NC, Lawson AJ, Owen RJ. 8. [Application of 3'-mismatched reverse primer PCR compared with real-time PCR and PCR-RFLP for the rapid detection of 23S rDNA mutations associated with clarithromycin resistance in Helicobacter pylori.] Int J Antimicrob Agents. 2004. Apr;23(4):349-55.
11. Chiba N. [Quadruple therapies appear to be more effective than triple therapies for eradicating single-drug-resistant Helicobacter pylori.] ACP J Club. 2008. Jan-Feb;148(1):9.
12. Gazi S, Karameris A, Christoforou M, Agnantis N, Rokkas T, Stefanou D. [Real-Time PCR Detection and quantitation of Helicobacter pylori clarithromycin-resistant strains in archival material and correlation with Sydney classification.] Ann Gastroenterol. 2013. 26:226-232.
13. Kim JM, Joo SK, Kim NY, Kim YJ, Kim IY, Chee YJ, Lee CH, Jung HC. [Gene Mutations of 23S rRNA Associated with Clarithromycin Resistance in Helicobacter pylori Strains Isolated from Korean Patients.] J. Microbiol. Biotechnol. 2008. Sep;18(9): 1584~1589
14. Eusebi LH1, Zagari RM, Bazzoli F. [Epidemiology of Helicobacter pylori infection.] Helicobacter. 2014. Sep 19; Suppl 1:1-5




















Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503




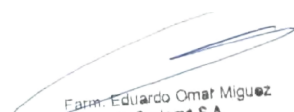
Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

CLAVE DE LOS SÍMBOLOS

Clave sobre los símbolos que se han usado en el manual y las etiquetas

| Símbolo | Explicación |
|---|---|
|  | Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> |
|  | Código de lote |
|  | Número de catálogo |
|  | Utilizar por fecha |
|  | Límite superior de temperatura |
|  | Mezcla de oligonucleotidos para amplificación y detección |
|  | PCR Master Mix or Detection Mix |
|  | RNase-free Water |
|  | Control Positivo (PC) |
|  | Control Interno (IC) |
|  | Consulte las instrucciones de uso |
|  | Fabricante |
|  | Fecha de fabricación |
|  | Representante autorizado en la Comunidad Europea |
|  | Precaución |
|  | Contiene suficiente para <n> test |
|  | Identificador único del dispositivo |

| Símbolo | Explicación |
|---|--|
|  | Código de barras de reacción para sistema de extracción automatizada |



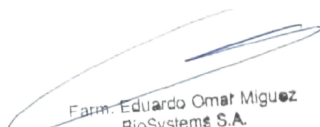
Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS




| N.º de Cat. | Producto | Tamaño |
|---|--|-------------|
| Allplex™ series | | |
| HC10389Z | Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | 25 rxns |
| HC10199Y | Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | 50 rxns |
| HC10200X | Allplex™ H. pylori & ClariR Assay | 100 rxns* |
| Sistemas de extracción automatizados | | |
| 65415-02 | Microlab NIMBUS IVD | EA |
| 173000-075 | Microlab STARlet IVD | EA |
| 65415-03 | Seegene NIMBUS | EA |
| 67930-03 | Seegene STARlet | EA |
| 744300.4.UC384 | STARMag 96 X 4 Universal Cartridge kit | 384T / 1box |
| SG71100 | SEEPREP32 | EA |
| EX00028P | STARMag™ SP32 Kit (Plate Type) | 96T / 1box |
| EX00028T | STARMag™ SP32 Kit (Tube Type) | 96T / 1box |
| M9600 | Maelstrom™ 9600 | EA |
| EX00029P | STARMag™ M96 Kit | 96T / 1box |
| EX00030P | STARMag™ M96 Kit | 960T / 1crt |



 Farm. Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.


ROTULOS "Allplex™ H. pylori & ClariR Assay"

Rotulo Externo: Allplex™ H. pylori & ClariR Assay (HC10389Z) x 25 determinaciones:





 **Allplex™**  



H. pylori & ClariR Assay

REF HC10389Z  25

LOT RVF522A03

 2023-01-31   2022-01-01  -20°C

EC REP **MT Promedt Consulting GmbH**
Altenhofstrasse 80, D-66386
St. Ingbert, Germany

(01) 08809240103623 (11) 220101
(17) 230131 (10) RVF522A01




Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu,
Seoul, Republic of Korea, 05548

Allplex™ H. pylori & ClariR Assay

Seegene Inc.

Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul,
Republic of Korea, 05548
TEL : +82-2-2240-4000 / FAX : +82-2-2240-4040
E-mail : info@seegene.com
www.seegene.com

Importado por:
BioSystems S.A.
Av. Dorrego 673 (C1414CKB)
TEL: (54-11) 4854-7775
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN17503
Producto para Diagnostico uso "In Vitro"
**"USO PROFECIONAL EXCLUSIVO-VENTA A LABORATORIOS DE
ANALISIS CLINICOS**
Autorizado por ANMAT:
PM-626-224


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

1) H.ClariR MOM



2) EM1



3) H.ClariR PC.



4) H.ClariR IC



5) RNase-free Water



Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rotulo Externo: Allplex™ H. pylori & ClariR Assay (HC10199Y) x 50 determinaciones:



Allplex™



H. pylori & ClariR Assay

(01) 08809240103623 (11) 220101
(17) 230131 (10) RVF522A01

REF HC10199Y Σ 50

LOT RVF522A02



2023-01-31



2022-01-01



EC REP MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, D-66386
St. Ingbert, Germany



Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu,
Seoul, Republic of Korea, 05548

Seegene Inc.

Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul,
Republic of Korea, 05548
TEL : +82-2-2240-4000 / FAX : +82-2-2240-4040
E-mail : info@seegene.com
www.seegene.com

Allplex™

H. pylori & ClariR Assay

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

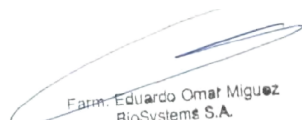
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN17503

Producto para Diagnostico uso "In Vitro"

**"USO PROFECIONAL EXCLUSIVO-VENTA A LABORATORIOS DE
ANALISIS CLINICOS**

Autorizado por ANMAT:

PM-626-224


Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARIANNA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

1) H.ClariR MOM



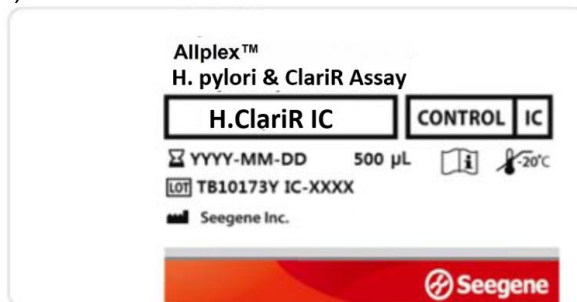
2) EM1



3) H.ClariR PC



4) H.ClariR IC






5) RNase-free Water




Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rotulo Externo: Allplex™ H. pylori & ClariR Assay (HC10200X) x 100 determinaciones:





 **Allplex™**  



H. pylori & ClariR Assay

REF HC10200X  100

LOT RVF522A01

 2023-01-31   2022-01-01  -20°C

EC REP **MT Promedt Consulting GmbH**
Altenhofstrasse 80, D-66386
St. Ingbert, Germany

Allplex™
H. pylori & ClariR Assay

(01) 08809240103623 (11) 220101
(17) 230131 (10) RVF522A01



Seegene Inc.
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu,
Seoul, Republic of Korea, 05548

Seegene Inc.

Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul,
Republic of Korea, 05548
TEL : +82-2-2240-4000 / FAX : +82-2-2240-4040
E-mail : info@seegene.com
www.seegene.com

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

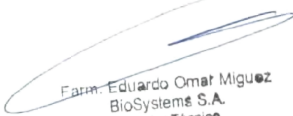
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN17503

Producto para Diagnostico uso "In Vitro"

**"USO PROFECIONAL EXCLUSIVO-VENTA A LABORATORIOS DE
ANALISIS CLINICOS**

Autorizado por ANMAT:

PM-626-224


Firma: Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

1) H.ClariR MOM



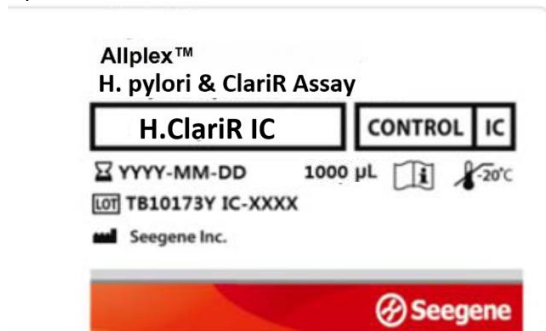
2) EM1



3) H.ClariR PC



4) H.ClariR IC



5) RNase-free Water



Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Farm. Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: PM 626-224 Manual de rotulos e instrucciones de uso.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 113 pagina/s.