ROTULO

Karin Osella
Directora Técnica
MN 11724
Altona Diagnostics Argentina S.r.l.

Mariela Ines Aranda
Gerente
Altona Diagnostics Argentina S.R.L.

FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5
IVD importado
Autorizado por ANMAT - PM 2436-65
Importado y distribuido por:
altona Diagnostics Argentina S.R.L
Monroe 1777, PB y Entrepiso, CABA.
Argentina.
Habilitación: N° 2436.
Directora Técnica: Farm. Karin Osella.
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.
LEA ATENTAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES

Se acondiciona con una etiqueta que contiene los datos siguientes:

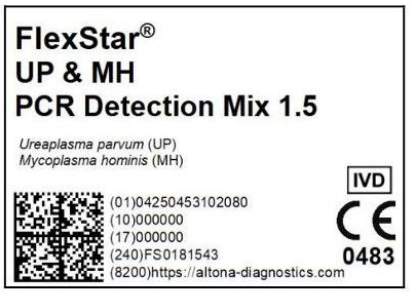
- Nombre del producto:
- Leyenda: “IVD importado”
- Importado y distribuido por:
- Domicilio:
- Habilitación N° 2436.
- Director Técnico:
- Leyenda: Autorizado por ANMAT N° PM 2436-65
- Leyenda: “USO PROFESIONAL EXCLUSIVO”
- Leyenda: “LEA ATENTAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES”

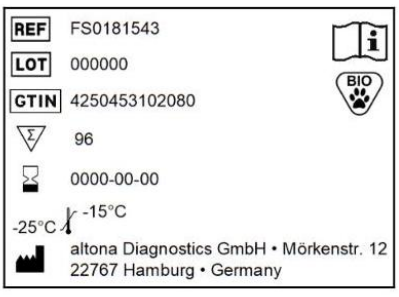
Información de origen en el envase secundario:

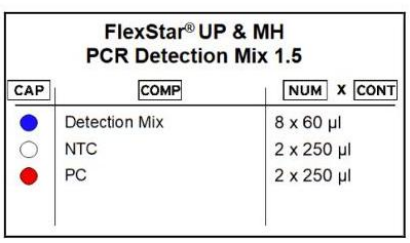
- Nombre del producto
- Número de lote
- Fecha de vencimiento
- Constitución del kit, número de determinaciones posibles
- Indicación de unidades métricas
- Indicación de condiciones de almacenamiento y transporte.
- Nombre y domicilio de establecimiento elaborador

ETIQUETAS DE ORIGEN

Etiquetas de caja: envase secundario







Etiquetas de los tubos: envase primario







EMBALAJE



Material de embalaje secundario

Los tubos de plástico están embalados en una caja de cartón [dimensiones (ancho x alto x profundidad) 96 mm x 68 mm x 63 mm], que contiene un inserto de cartón con orificios para estabilizar los tubos durante el transporte y almacenamiento.



Material de embalaje primario

Todos los reactivos incluidos en el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se suministran en tubos de polipropileno de 2 ml con tapa.

Detalle:

- ✓ Tapa azul para tubo de plástico de 2 ml (Detection Mix)
- ✓ Tapa morada para tubo de plástico de 2 ml (PC)
- ✓ Tapa blanca para tubo de plástico de 2 ml (NTC)

Instrucciones de uso

FlexStar®
UP & MH
PCR Detection Mix 1.5

04/2026 ES

STI

FlexStar®

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

FlexStar®

UP & MH PCR Detection Mix 1.5

Para utilizar con

CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)

CFX96™ Dx System (Bio-Rad)

QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

CE 0483

IVD

REF FS0181543

Σ 96

04 2026

altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12
22767 Hamburg • Germany

MAN-FS0181540-ES-S01

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Índice

1. Acerca de estas instrucciones de uso 8

2. Uso indicado 9

3. Componentes del producto 10

3.1 Reactivos 10

3.2 Plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 11

4. Almacenamiento y manipulación 11

4.1 Almacenamiento 11

4.2 Manipulación 12

4.2.1 Detection Mix 13

4.2.2 Positive Control (control positivo) y No Template Control (control negativo) 14

5. Descripción del producto 14

5.1 Información general 15

5.2 Descripción de los reactivos 16

5.2.1 Detection Mix 16

5.2.2 Positive Control (control positivo) 16

5.2.3 No Template Control (control negativo) 16

5.3 Flujos de trabajo 17

5.3.1 AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) 17

5.3.2 Otros flujos de trabajo 18

5.4 Muestras 18

5.4.1 Tipos de muestras 18

5.4.2 Recogida y manipulación de muestras 19

6. Advertencias, precauciones y limitaciones 20

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7. Uso del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 con el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) 22

7.1 Volumen de muestra y protocolos de purificación 23

7.2 Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados para el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) 24

7.3 Material y dispositivos generales 26

7.4 Procedimiento 26

7.4.1 Descripción general del AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) 26

7.4.2 Preparación de una serie de AltoStar® 33

7.4.3 Inicio de una serie de configuración de PCR 33

7.4.3.1 Preparación de reactivos para una serie de configuración de PCR 34

7.4.3.2 Carga del AltoStar® AM16 para una serie de configuración de PCR 35

7.4.3.3 Durante la serie de configuración de PCR 39

7.4.4 Fin de la serie de configuración de PCR 39

7.4.4.1 Resultados de serie de configuración de PCR 40

7.4.5 Sellado de la placa PCR 42

7.4.5.1 Estabilidad de la mezcla de PCR 44

7.4.6 Inicio de una serie PCR 44

7.4.6.1 Durante la serie PCR 45

7.4.7 Análisis de datos PCR utilizando CFX Manager™ Dx software 46

7.4.7.1 Asignación de ensayos a grupos de pocillos 47

7.4.7.2 Corrección de la línea de base 51

7.4.7.3 Exclusión de señales de PCR irregulares 53

7.4.7.4 Ajuste de umbrales 57

7.4.8 Validez de los resultados de PCR 61

7.4.8.1 Exclusión de pocillos que contengan datos no válidos 61

7.4.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico 64

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7.4.8.3 Validez de los resultados para una muestra 64
7.4.9 Exportación de resultados de PCR sin transferencia a un LIMS..... 65
7.4.9.1 Interpretación manual de los resultados 66
7.4.10 Exportación de resultados de PCR a un LIMS 68
7.4.11 Análisis de datos de PCR e interpretación de resultados automatizada utilizando FastFinder..... 69

8. Uso del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 con otros instrumentos PCR en tiempo real que no sean el CFX96™ Deep Well Dx System..... 71
8.1 Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados..... 71
8.2 Procedimiento..... 72
8.2.1 Preparación de las muestras..... 72
8.2.2 Configuración de master mix..... 73
8.2.3 Configuración de reacción..... 73
8.2.4 Serie PCR..... 75
8.2.4.1 Programación del instrumento de PCR en tiempo real..... 75
8.2.4.2 Configuración de la serie..... 75
8.2.5 Análisis de datos 76

9. Datos de rendimiento 77
9.1 Orina..... 77
9.1.1 Sensibilidad analítica..... 77
9.1.2 Especificidad analítica 79
9.1.2.1 Muestras negativas 80
9.1.2.2 Sustancias interferentes..... 80
9.1.2.3 Reactividad cruzada..... 81
9.1.3 Precisión..... 82
9.1.4 Índice de fallo total..... 85
9.1.5 Arrastre..... 86
9.1.6 Rendimiento clínico 86

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

9.2 Hisopos genitales 88
9.2.1 Sensibilidad analítica 88
9.2.2 Especificidad analítica 90
9.2.2.1 Muestras negativas 90
9.2.2.2 Sustancias interferentes 90
9.2.2.3 Reactividad cruzada 91
9.2.3 Precisión 92
9.2.4 Índice de fallo total 95
9.2.5 Arrastre 96
9.2.6 Rendimiento clínico 96

10. Eliminación 98

11. Control de calidad 98

12. Soporte técnico 99

13. Resumen de seguridad y resultados 99

14. Bibliografía 100

15. Marcas comerciales y aviso legal 101

16. Símbolos 102

17. Protocolo de ensayo para el AltoStar® Connect Software e información para la integración de LIMS 104

18. Historial de revisiones 106

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

1. Acerca de estas instrucciones de uso

Estas instrucciones de uso guían al usuario en la utilización del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Los capítulos 1-6 y 9-17 contienen información general e instrucciones que se aplican a cada flujo de trabajo utilizado con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 cuando se utiliza en combinación con el FlexStar® (RT-) PCR Amplification Mix 1.5. El capítulo 7 ofrece instrucciones sobre cómo usar el producto con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización) (Hamilton, resumido a continuación como AltoStar® AM16) con el AltoStar® Connect Software (versión 2.0.10 o superior, Hamilton) para la configuración de PCR automática. También incluye instrucciones sobre cómo usar el producto en el CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad, resumido a continuación como CFX96™ DW Dx) con el CFX Manager™ Dx software (versión 3.1, Bio-Rad) para PCR en tiempo real. El capítulo 8 proporciona instrucciones sobre cómo usar el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en combinación con otros instrumentos de PCR en tiempo real. Para obtener más información sobre el uso del AltoStar® AM16, el AltoStar® Connect Software, el kit AltoStar® Purification Kit 1.5, el AltoStar® Internal Control 1.5, el FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5 y el CFX96™ DW Dx, consulte las respectivas instrucciones de uso que figuran a continuación:

- Manual IVD del operador AltoStar® Automation System AM16 (Hamilton)
- Manual IVD AltoStar® Connect Software (Hamilton)
- Instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- Instrucciones de uso del AltoStar® Internal Control 1.5
- Instrucciones de uso del FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- Sistemas CFX96™ Dx y CFX96™ Deep Well Dx Manual de funcionamiento (Bio-Rad)

En este manual, los términos PRECAUCIÓN y NOTA tienen los significados siguientes:

PRECAUCIÓN



Destaca instrucciones o procedimientos operativos que, si no se siguen correctamente, pueden provocar lesiones personales o afectar al rendimiento del producto. Contacte con el soporte técnico de altona Diagnostics para recibir ayuda.

NOTA



Se ofrece al usuario información que es útil pero no esencial para la tarea en cuestión.

Lea las instrucciones de uso detenidamente antes de utilizar el producto.

2. Uso indicado

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 es un test de diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología PCR en tiempo real, para la detección cualitativa y diferenciación de ADN específico del *Ureaplasma parvum* y del *Mycoplasma hominis* en muestras de orina humana e hisopos genitales humanos recogidas en medio de transporte.

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 está previsto para usarse como ayuda para el diagnóstico de la infección por *Ureaplasma parvum* y *Mycoplasma hominis*.

Los resultados generados con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 deben interpretarse junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se ha diseñado para que lo utilicen usuarios profesionales formados en técnicas de biología molecular y procedimientos de diagnósticos *in vitro*.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

3. Componentes del producto

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se compone de una caja de reactivos y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

3.1 Reactivos

La caja del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 contiene los siguientes componentes:

Tabla 1: Componentes de la caja de reactivo

Color de la tapa	Componente	Número de tubos	Volumen nominal [µl/tubo]
Azul	Detection Mix[1)]	8	60[2)]
Rojo	PC[3)]	2	250
Blanco	NTC[4)]	2	250

[1)] Contiene material biológico de origen animal

[2)] Contiene un volumen adicional para compensar el volumen muerto de la manipulación de líquido del AltoStar® AM16

[3)] Positive Control (control positivo con ADN específico de UP y MH)

[4)] No Template Control (control negativo)

PRECAUCIÓN



Antes del primer uso, compruebe el producto y sus componentes para ver si están completos en cuanto a número, tipo y relleno. No utilice un producto incompleto o defectuoso, pues el rendimiento del mismo podría verse afectado.

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 contiene suficientes reactivos para realizar 96 reacciones.

La caja del reactivo se envía en hielo seco. En el momento de la recepción y antes de su primer uso, compruebe lo siguiente en la caja de reactivo y sus componentes:

- Integridad
- Si está completo en cuanto a número, tipo y relleno
- Etiquetado correcto
- Fecha de caducidad
- Estado congelado
- Claridad y ausencia de partículas

Si uno o más componentes no están congelados en el momento de la recepción, o si se han puesto en peligro tubos durante el envío, póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics para obtener ayuda (consulte el capítulo 12. Soporte técnico).

3.2 Plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5

El plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 versión 1.1 se puede usar opcionalmente en combinación con el software FastFinder Standalone para el análisis de datos y la interpretación de resultados automatizada. No se proporciona con los reactivos del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 y debe solicitarse por separado como parte del AltoStar® Automated Analysis Package (n.º de pedido VK000045).

4. Almacenamiento y manipulación

Todos los reactivos incluidos en el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 son soluciones listas para usar.

4.1 Almacenamiento

Todos los reactivos del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 deben almacenarse entre -25 °C y -15 °C tras su recepción.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN



Unas condiciones de almacenamiento inadecuadas podrían afectar al rendimiento del producto.

PRECAUCIÓN



No use productos cuya fecha de caducidad haya expirado. El uso de productos caducados puede afectar al rendimiento del producto.

4.2 Manipulación

El AltoStar® AM16 realiza un seguimiento del uso de los reactivos escaneando el código de barras de cada tubo. En función del componente, cada tubo solo se puede descongelar y usar un determinado número de veces. Para más información, consulte el capítulo 4.2.1 Detection Mix y el capítulo 4.2.2 Positive Control (control positivo) y No Template Control (control negativo).

PRECAUCIÓN



No exceda la secuencia de congelación y descongelación ni las duraciones de manipulación especificadas en estas instrucciones de uso, ya que podría afectar al rendimiento del producto.

PRECAUCIÓN



Manipular incorrectamente los componentes de los productos y las muestras puede provocar contaminación y afectar al buen funcionamiento del producto:

- No intercambie tapones de viales y botes.
- Almacene los materiales positivos y/o potencialmente positivos separados de los componentes del producto.
- Utilice áreas de trabajo separadas para la preparación de las muestras, la configuración de reacción y las actividades de amplificación/detección.
- Deseche siempre los guantes después de manipular material positivo y/o potencialmente positivo.
- No abra los tubos y/o las placas PCR después de la amplificación.

PRECAUCIÓN



No mezcle componentes de diferentes lotes de FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5, ya que esto podría afectar al rendimiento del producto.

NOTA



Cuando se escanea un tubo de reactivo mediante el AltoStar® AM16, se marca como usado, incluso si no se ha extraído líquido durante la serie.

4.2.1 Detection Mix

1. Tras la descongelación, la Detection Mix permanecerá estable durante 5 horas a una temperatura de hasta +30 °C.
2. Deseche las tapas de los tubos de la Detection Mix en cada uso y utilice nuevas tapas para evitar la contaminación de los reactivos.
3. Tras el uso, cierre los tubos de la Detection Mix con tapas nuevas y congélelos inmediatamente.
4. No supere la siguiente secuencia de congelación y descongelación para cada tubo de la Detection Mix: *Descongelación 1 → Congelación 1 → Descongelación 2*

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

4.2.2 Positive Control (control positivo) y No Template Control (control negativo)

1. Después de la descongelación, el Positive Control (PC, control positivo) y el No Template Control (NTC, control negativo) son estables durante 5 horas a una temperatura de hasta +30 °C.
2. Deseche las tapas de los tubos de PC y NTC en cada uso y utilice nuevas tapas para evitar la contaminación de los reactivos.
3. Tras el uso, cierre los tubos de PC y NTC con tapas nuevas y congélelos inmediatamente.
4. No supere la siguiente secuencia de congelación y descongelación para cada tubo de PC y NTC: *Descongelación 1 → Congelación 1 → Descongelación 2 → Congelación 2 → Descongelación 3 → Congelación 3 → Descongelación 4*

5. Descripción del producto

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 es un test de diagnóstico *in vitro* para la detección cualitativa y la diferenciación de ADN específico de *Ureaplasma parvum* (UP) y *Mycoplasma hominis* (MH) en muestras de orina humana e hisopos genitales humanos recogidas en medio de transporte.

Se basa en la tecnología PCR en tiempo real, que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de secuencias objetivo específicas de UP y MH y sondas específicas objetivo etiquetadas con fluorescencia para la detección del ADN amplificado.

Además de los sistemas de amplificación y detección específicos de ADN de UP y MH, enfocados en la proteína hipotética (CDS) de UP y al gen *p120'* de MH, el ensayo incluye oligonucleótidos para la amplificación y la detección del control interno (en lo sucesivo abreviado como IC; AltoStar® Internal Control 1.5).

La sonda específica para ADN de UP está etiquetada con el fluoróforo FAM™, mientras que la sonda específica para ADN de MH está etiquetada con el fluoróforo Cy5. La sonda específica para el IC está etiquetada con un fluoróforo (JOE™) detectable en el canal VIC™, por ejemplo.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Utilizar sondas conectadas a colorantes distinguibles permite la detección paralela de ADN específico de UP y MH y el Internal Control (IC) en los canales de detección correspondientes del instrumento de PCR en tiempo real utilizado.

5.1 Información general

Ureaplasma parvum (UH)

Ureaplasma parvum es una bacteria esférica o cocobacilar que pertenece al género *Ureaplasma* de la familia *Mycoplasmataceae*. *U. parvum* tiene 4 serotipos: 1, 3, 6 y 14. Solo hay dos especies de *Ureaplasma* que pueden infectar a los humanos, *U. urealyticum* y *U. parvum* [1].

Ambas especies se encuentran comúnmente en el aparato genitourinario humano, tanto en individuos sanos como en pacientes sintomáticos. No es posible diferenciarlas mediante microscopía. Hasta 2002, los estudios no distinguían entre estas dos especies, por lo que ambas se denominaban erróneamente *U. urealyticum* [2].

El papel patógeno de *U. parvum* es objeto de controversia. Normalmente, *U. parvum* no causa ningún síntoma, pero una alta carga bacteriana puede generar una respuesta inflamatoria [3]. Además, las infecciones por *U. parvum* pueden provocar desenlaces adversos del embarazo, como parto prematuro [4]. *U. parvum* también puede transmitirse por vía intrauterina y perinatal, causando bajo peso al nacer, infecciones neonatales y, ocasionalmente, enfermedades respiratorias [1].

Mycoplasma hominis (MH)

Mycoplasma hominis es una bacteria cocoide pequeña del género *Mycoplasma* que pertenece a la familia *Mycoplasmataceae*. Es una de las procariotas independientes más pequeñas, con un diámetro aproximado de 0,5 µm. *M. hominis* se encuentra en todo el mundo y coloniza principalmente el sistema urogenital humano. La bacteria se transmite principalmente por contacto sexual, aunque también es posible la transmisión de madre a hijo. *M. hominis* utiliza los recursos de su organismo huésped, pero no suele causar infección y, por lo tanto, permanece apatógena para la mayoría de los humanos [5].

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

En las mujeres, la infección a veces provoca inflamación local (por ejemplo, endometritis y salpingitis). *M. hominis* también puede estar asociada con vaginosis bacteriana y enfermedad pélvica inflamatoria [6]. En varones, se ha encontrado una asociación entre la infección por *M. hominis* y la infertilidad [7]. Además, la infección en neonatos puede estar asociada con bacteriemia, neumonía y meningitis [8].

La mayoría de las personas infectadas son asintomáticas y pueden transmitir el patógeno sin saberlo. Las medidas de prevención se corresponden con los principios básicos para la prevención de las infecciones de transmisión sexual, como el uso de prácticas sexuales más seguras.

5.2 Descripción de los reactivos

5.2.1 Detection Mix

Excepto para la polimerasa de ADN, que se incluye en el FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5, la Detection Mix contiene todos los componentes (tampón de PCR, sal de magnesio, cebadores y sondas) para permitir la amplificación mediada por PCR, la detección objetivo y la diferenciación del ADN específico de UP y MH y del IC en una configuración de reacción.

5.2.2 Positive Control (control positivo)

El PC contiene concentraciones estandarizadas de ADN específico de UP y MH. El PC se usa para verificar la funcionalidad de los sistemas de amplificación y detección específicos para UP y MH incluidos en el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

5.2.3 No Template Control (control negativo)

El NTC no contiene ADN específico de UP y MH pero sí contiene la plantilla de IC. El NTC se utiliza como control negativo para el PCR en tiempo real específico de ADN de UP y MH e indica la posible contaminación de los reactivos de PCR.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

5.3 Flujos de trabajo

5.3.1 AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

El AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) incluye los siguientes productos:

- AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización) (Hamilton)
- AltoStar® Connect Software versión 2.0.10 o superior (Hamilton)
- AltoStar® Purification Kit 1.5
- AltoStar® Internal Control 1.5
- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad) con CFX Manager™ Dx versión de software 3.1 (Bio-Rad)
- *Opcional:* FastFinder Standalone versión 1.0 o superior (UgenTec NV)

El flujo de trabajo incluye los pasos siguientes:

1. Transferencia de información sobre las muestras y carga de muestras.
2. Serie de purificación en el AltoStar® AM16 utilizando el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 y el AltoStar® Internal Control 1.5.
3. Serie de configuración de PCR en el AltoStar® AM16 usando el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en combinación con el FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5.
4. Serie PCR en tiempo real en un CFX96™ DW Dx.

Para obtener más detalles de los pasos 3 y 4 del flujo de trabajo, consulte el capítulo 7. Uso del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 con el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo). Todos los tipos de muestras y volúmenes de muestras especificados para su uso con el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 pueden procesarse simultáneamente en el AltoStar® AM16.

El número de ensayos de PCR en tiempo real que pueden asignarse a una muestra depende únicamente del volumen de muestra total suministrado. El AltoStar® Connect Software solicita automáticamente el número de series de purificación necesario para la muestra. Si el número de ensayos asignados supera el volumen del eluido disponible, se programarán purificaciones adicionales.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

NOTA

Los ensayos con perfiles de temperatura de PCR diferentes se ordenan automáticamente en placas PCR separadas.

5.3.2 Otros flujos de trabajo

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se puede usar con flujos de trabajo compatibles. El software y los instrumentos de PCR en tiempo real siguientes se han validado para su uso con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5:

- CFX96™ Deep Well Dx System y CFX Manager™ Dx software versión 3.1 (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System y CFX Manager™ Dx software versión 3.1 (Bio-Rad)
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System y QuantStudio™ 5 Dx software v1.0.2 (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform y Rotor-Gene® Q Software versión 2.3.1 (QIAGEN)

Usando uno de los instrumentos de PCR en tiempo real mencionados anteriormente (excepto CFX96™ Deep Well Dx System), hay que realizar manualmente la configuración de PCR, la programación del instrumento y el análisis de datos (para obtener más información, consulte desde el capítulo 8.2.2 Configuración de master mix hasta el capítulo 8.2.5 Análisis de datos).

5.4 Muestras

5.4.1 Tipos de muestras

Los siguientes tipos de muestras están validados para su uso con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5:

- Orina humana
- Muestras de hisopos genitales humanos [(endo-)cervical, vaginal y uretral] recogidas en medio de transporte

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN



Este test solo se ha validado para su uso con muestras de orina humana e hisopos genitales humanos recogidas en medio de transporte. El uso de otros tipos de muestras puede afectar al rendimiento del producto.

5.4.2 Recogida y manipulación de muestras

Las muestras de orina deben recogerse en un recipiente estéril. Las muestras de orina deben almacenarse entre +2 °C y +8 °C durante no más de 24 horas.

Para la recogida de las muestras, hay que usar hisopos disponibles comercialmente con varilla de plástico y punta de poliéster o de fibra Dacron. Los hisopos secos se deben resuspender en medio de transporte (por ejemplo, UTM® de Copan). No deben utilizarse bastoncillos de alginato de calcio, bastoncillos con la varilla de madera o puntas de algodón, ni bastoncillos que contengan gel de agar. El transporte deberá realizarse de acuerdo con la legislación local o nacional relativa al transporte de material biológico.

Antes de su uso, los hisopos genitales resuspendidos en medio de transporte no deberían permanecer almacenados durante más de 48 horas a temperatura ambiente (entre +20 °C y +25 °C), 5 días a una temperatura entre +2 °C y +8 °C o 2 meses a una temperatura entre -25 °C y -15 °C.

PRECAUCIÓN



Trate siempre las muestras como si fuera material infeccioso y (bio)peligroso conforme a los procedimientos de seguridad y de laboratorio. Si se derrama material de las muestras, utilice rápidamente un desinfectante adecuado. Manipule los materiales contaminados como si fueran biopeligrosos.

PRECAUCIÓN



La recogida, el envío, el almacenamiento o la preparación inadecuados de las muestras podrían alterar el rendimiento del producto.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

NOTA

El almacenamiento en congelación no pone en peligro el rendimiento del producto. Cuando trabaje con muestras congeladas, asegúrese de que se hayan descongelado y mezclado correctamente antes de su uso.

NOTA

Las muestras deben estar libres de sólidos y de componentes de alta viscosidad. Los sólidos y los componentes de alta viscosidad interferirán con la transferencia de muestras en el AltoStar® AM16 y las muestras no se procesarán.

NOTA

El uso de bastoncillos de alginato de calcio podría provocar resultados incorrectos o no válidos debido a la inhibición de la PCR.

NOTA

El uso de bastoncillos con la varilla de madera y/o puntas de algodón o de bastoncillos con gel de agar como medio de transporte pueden interferir con la transferencia de muestras al AltoStar® AM16 debido a los restos de madera, algodón y/o agar, por lo que las muestras no se procesarán.

6. Advertencias, precauciones y limitaciones

- Antes del primer uso, compruebe el producto y sus componentes para ver si están completos en cuanto a número, tipo y relleno. No utilice un producto incompleto o defectuoso, pues el rendimiento del mismo podría verse afectado.
- Unas condiciones de almacenamiento inadecuadas podrían afectar al rendimiento del producto.
- No use productos cuya fecha de caducidad haya expirado. El uso de productos caducados puede afectar al rendimiento del producto.
- No exceda la secuencia de congelación y descongelación ni las duraciones de manipulación especificadas en estas instrucciones de uso, ya que podría afectar al rendimiento del producto.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

- Manipular incorrectamente los componentes de los productos y las muestras puede provocar contaminación y afectar al buen funcionamiento del producto:
  - No intercambie tapones de viales y botes.
  - Almacene los materiales positivos y/o potencialmente positivos separados de los componentes del producto.
  - Utilice áreas de trabajo separadas para la preparación de las muestras, la configuración de reacción y las actividades de amplificación/detección.
  - Deseche siempre los guantes después de manipular material positivo y/o potencialmente positivo.
  - No abra los tubos y/o las placas PCR después de la amplificación.
- No mezcle componentes de diferentes lotes de FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5, ya que esto podría afectar al rendimiento del producto.
- Trate siempre las muestras como si fuera material infeccioso y (bio)peligroso conforme a los procedimientos de seguridad y de laboratorio. Si se derrama material de las muestras, utilice rápidamente un desinfectante adecuado. Manipule los materiales contaminados como si fueran biopeligrosos.
- La recogida, el envío, el almacenamiento o la preparación inadecuados de las muestras podrían alterar el rendimiento del producto.
- El almacenamiento de eluidos en condiciones incorrectas puede provocar la degradación de las secuencias objetivo de UP y MH y podría afectar al rendimiento del producto.
- No use una versión del protocolo de ensayo distinta de la indicada en el código de barras 2D de estas instrucciones de uso. Si se utiliza una versión incorrecta del protocolo de ensayo, el buen funcionamiento del producto podría verse afectado.
- La ausencia de centrifugación de los componentes del producto tras la descongelación podría provocar la contaminación con restos de reactivos en las tapas y podría afectar al rendimiento del producto.
- No reutilice los tapones de tubos para evitar la contaminación de los reactivos, ya que podría afectar al rendimiento del producto.
- Como con cualquier test diagnóstico, los resultados se interpretarán teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
- No use volúmenes diferentes del componente Detection Mix y Amplification Mix para la configuración de master mix distintos de los especificados en estas instrucciones de uso, ya que esto podría afectar al rendimiento del producto.

IF-2026-10035468-APN-INPM#ANMAT

- No supere el tiempo de almacenamiento de la mezcla de PCR, ya que podría afectar al buen funcionamiento del producto.
- No mezcle muestras ni ID de muestras durante la configuración de PCR o la transferencia al instrumento PCR. Esto podría provocar resultados con falsos positivos o falsos negativos debido a una asignación de muestras incorrecta.
- No use otras condiciones de ciclo distintas de las especificadas en estas instrucciones de uso, ya que esto podría afectar al rendimiento del producto.
- No use otra configuración de control para el análisis de datos que no sea la especificada en estas instrucciones de uso, ya que esto podría provocar unos resultados de examen IVD incorrectos.
- Si la muestra contiene otros patógenos distintos de UP y/o MH, puede darse competencia con la amplificación objetivo o reactividades cruzadas, lo que provocaría unos resultados de examen IVD incorrectos.
- Deberá cumplir las normativas locales y nacionales a la hora de eliminar los residuos peligrosos y biológicos para evitar la contaminación medioambiental.
- Las posibles mutaciones dentro de las regiones objetivo del genoma del UP y/o el MH cubiertas por los cebadores y/o las sondas utilizados en el producto pueden provocar fallos al detectar la presencia de los patógenos.
- Este test solo se ha validado para su uso con muestras de orina humana e hisopos genitales humanos recogidas en medio de transporte. El uso de otros tipos de muestras puede afectar al rendimiento del producto.
- La presencia de inhibidores de PCR podría provocar falsos negativos o resultados no válidos.

7. Uso del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 con el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

La parte siguiente de estas instrucciones de uso describe la utilización del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 junto con el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo). El AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) incluye diferentes productos [AltoStar® AM16, AltoStar® Connect Software versión 2.0.10 o superior (Hamilton), AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Internal Control 1.5, CFX96™ DW Dx con CFX Manager™ Dx software versión 3.1 (Bio-Rad) y FastFinder Standalone versión 1.0 o superior (UgenTec NV) para análisis de datos e interpretación de resultados automatizada (opcional)]. La utilización de estos productos se describe con detalle en las respectivas instrucciones de uso.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

- Manual IVD del operador AltoStar® Automation System AM16 (Hamilton)
- Manual IVD AltoStar® Connect Software (Hamilton)
- Instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- Instrucciones de uso del AltoStar® Internal Control 1.5
- Sistemas CFX96™ Dx y CFX96™ Deep Well Dx Manual de funcionamiento (Bio-Rad)
- Instrucciones de uso FastFinder Standalone (UgenTec NV)

7.1 Volumen de muestra y protocolos de purificación

El volumen de muestra depende del tipo de muestra. Debe proporcionarse un volumen de muestra adicional para compensar el volumen muerto del tubo de muestras. Para ver detalles, consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

Además, debe seleccionarse un protocolo de purificación en el AltoStar® Connect Software para la purificación automatizada de ácido nucleico por cada muestra al utilizar el AltoStar® AM16. El protocolo de purificación depende del tipo de muestra, el volumen de muestra y la gama del producto (por ejemplo, AltoStar® o FlexStar®). Los protocolos de purificación validados para el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 son:

Tabla 2: Protocolos de purificación para el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5

Tipo de muestra	Volumen de muestra [µl]	Protocolo de purificación
Muestra de hisopo genital	500	FlexStarSwabs500
Orina	500	FlexStarUrine500

7.2 Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados para el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

El material y los dispositivos que se muestran en la tabla 3 deben solicitarse a altona Diagnostics.

Tabla 3: Material y dispositivos necesarios

Material	Descripción	N.º de pedido
AltoStar® Molecular Diagnostic Workflow	El pack de productos contiene el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización), el AltoStar® Connect Software (versión 2.0.10 o superior) y hardware informático	AM16
AltoStar® Detection	El pack de productos contiene el CFX96™ Deep Well Dx System con el CFX Manager™ Dx software (versión 3.1), un escáner de código de barras y hardware informático	DT16
AltoStar® Purification Kit 1.5	Química de aislamiento y purificación de ácidos nucleicos para el uso con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización)	PK15-46
AltoStar® Internal Control 1.5	Extracción de ácido nucleico y control de detección y amplificación de PCR	IC15-46
FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5	Mezcla enzimática para amplificación y detección de ácidos nucleicos	FS0011515/ FS0011543
PCR Plate	Placa de 96 pocillos con código de barras, semifaldón y pocillos blancos	VK000005
PCR Plate Sealing Foil	Lámina sellante para la placa PCR	VK000006
1,000 µl CO-RE Tips	Puntas de filtro de 1000 µl para usar con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización)	VK000007

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Material	Descripción	N.º de pedido
300 µl CO-RE Tips	Puntas de filtro de 300 µl para usar con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización)	VK000008
Pooling Tube	Tubo con código de barras para la agrupación de reactivos de PCR	VK000002
Waste Bag	Bolsa estéril apta para autoclave para usar con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización)	VK000009
Screw Cap - red	Tapón de rosca para tubos de PC (rojo)	VK000012
Screw Cap - blue	Tapón de rosca para tubos de Detection Mix (azul)	VK000013
Screw Cap - white	Tapón de rosca para tubos de NTC (blanco)	VK000016

Tabla 4: Material y dispositivos adicionales de laboratorio

Material	Descripción	N.º de pedido
AltoStar® Automated Analysis Package	Ordenador personal con el paquete del software FastFinder Standalone instalado (versión 1.0 o superior) y el plugin de ensayo para análisis de datos e interpretación de resultados automatizada	VK000045
Sellador de placas	p. ej., AltoStar® Plate Sealer (sellador de placas)	VK000023
	p. ej., PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)	VK000033

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7.3 Material y dispositivos generales

- Agitador vortex
- Guantes sin polvo (desechables)
- Centrífuga para el centrifugado de componentes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5
- Centrífuga para el centrifugado de placas PCR
- Pipetas (ajustables)
- Puntas de pipetas con filtros (desechables)

7.4 Procedimiento

7.4.1 Descripción general del AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

Los pasos del AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) completo se resumen en la tabla 5. Se proporciona información sobre configuraciones específicas para el uso con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en el capítulo 7.4.2 Preparación de una serie de AltoStar®. Para instrucciones detalladas para los pasos 1-5, consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5, el AltoStar® Connect Software y el AltoStar® AM16.

Los pasos 6-9 se describen con más detalle en los capítulos del 7.4.3 Inicio de una serie de configuración de PCR hasta el capítulo 7.4.6 Inicio de una serie PCR.

Los pasos 10 y 11 difieren para la interpretación de resultados manual y automatizada. Puede consultarse más en detalle la interpretación de resultados manual en los capítulos del 7.4.7 Análisis de datos PCR utilizando CFX Manager™ Dx software al capítulo 7.4.10 Exportación de resultados de PCR a un LIMS. Los pasos para el análisis de datos y la interpretación de resultados automatizada utilizando FastFinder se detallan en el capítulo 7.4.11 Análisis de datos de PCR e interpretación de resultados automatizada utilizando FastFinder.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Tabla 5: Descripción general del AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

Paso	Acción
1. Iniciar el AltoStar® AM16	• Encienda el AltoStar® AM16. • Encienda el ordenador y el monitor. • Inicie el AltoStar® Connect Software.
2. Realizar mantenimiento	• En la barra de menú, haga clic en **Application → Instrument Maintenance** (aplicación → mantenimiento del instrumento). ◦ Si está pendiente el mantenimiento semanal, haga clic en **Start Weekly Maintenance** (iniciar mantenimiento semanal). ◦ Si está pendiente el mantenimiento diario, haga clic en **Start Daily Maintenance** (iniciar mantenimiento diario). • Siga las instrucciones en pantalla para completar el proceso de mantenimiento.
3. Transferencia de información sobre la muestra	• En la barra de menú, haga clic en **Sample Processing → AltoStar Purification – Order Management and Start** (procesamiento de muestras → purificación AltoStar - gestión de órdenes e inicio). De forma alternativa, regrese a la pantalla Home (inicio) y haga clic en el botón **Order Management** (gestión de órdenes) en la sección AltoStar Purification (purificación AltoStar). • Añada Work Orders (órdenes de trabajo) a menos que ya se hayan importado desde el LIMS. • Seleccione el siguiente ensayo para las Work Orders (órdenes de trabajo), a menos que ya lo haya importado del LIMS: ◦ FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Paso	Acción
4. Iniciar una serie de purificación	• En la barra de menú, haga clic en **Sample Processing → AltoStar Purification – Order Management and Start** (procesamiento de muestras → purificación AltoStar - gestión de órdenes e inicio). • Prepare los reactivos de purificación: ◦ Asegúrese de que los reactivos de purificación que desea utilizar tengan el mismo número de carga (excepto el AltoStar® Internal Control 1.5 y el AltoStar® Whole Blood Pretreatment Buffer 1.5) y no hayan caducado. ◦ Si hay precipitados visibles en el Lysis Buffer (tampón de lisis), caliéntelo (≤+50 °C) hasta que se disuelvan por completo. ◦ Descongele el IC (AltoStar® Internal Control 1.5) y mezcle con el agitador de vórtice durante 5 segundos. ◦ Mezcle las Magnetic Beads (esferas magnéticas) con el agitador de vórtice durante 5 segundos sin mojar la tapa. • Prepare las muestras para iniciar la serie de purificación como se indica en las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5. • Haga clic en el botón **Start Loading** (iniciar carga) en la barra de herramientas. De forma alternativa, vuelva a la pantalla Home (inicio) y haga clic en el botón **Start** (iniciar) en la sección AltoStar Purification (purificación AltoStar). • Siga los cuadros de diálogo de carga y cargue el instrumento en consonancia. • Confirme el cuadro de diálogo Loading Complete (carga completa) haciendo clic en **OK** (aceptar) o espere 10 segundos. El sistema realizará a continuación la serie de purificación automáticamente.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Paso	Acción
5. Finalizar la serie de purificación	• Asegúrese de que la bandeja de carga está vacía y confirme el cuadro de diálogo Run Finished (serie finalizada) haciendo clic en **OK** (aceptar). • Siga las instrucciones del cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento) y confirme con **OK** (aceptar). • Selle y almacene los componentes del kit AltoStar® Purification Kit 1.5 que puedan reutilizarse. Los eluidos de la placa de eluidos sin sellar son estables a temperatura ambiente (máx. +30 °C) durante un total de 4 horas. • Si la serie de configuración de PCR asociada no se inicia inmediatamente, selle la placa de eluidos con una lámina sellante para placas de eluidos y almacénela a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C durante 24 horas. • Vea los resultados de la serie de purificación para confirmar el procesamiento correcto de cada muestra.

Paso	Acción
6. Inicio de una serie de configuración de PCR	• En la barra de menú, haga clic en **PCR Setup → Start PCR Setup Run** (configuración de PCR → iniciar configuración de PCR). De forma alternativa, vuelva a la pantalla de Start (iniciar) y haga clic en el botón **PCR Setup** (configuración de PCR). • Seleccione la serie de configuración de PCR que desea iniciar para mostrar la placa de eluidos y los reactivos incluidos en la serie de configuración de PCR seleccionada. • Prepare los reactivos de PCR: ◦ Asegúrese de que la Detection Mix y los controles que va a utilizar sean del mismo lote de producto. ◦ Compruebe que la Detection Mix, la Amplification Mix y los controles que va a utilizar no estén caducados. ◦ Descongele la cantidad necesaria de Detection Mix, Amplification Mix y control, aplique un vortex brevemente y centrifugue. • Si la placa de eluidos está sellada, centrifúguela brevemente y quite el sello con cuidado. • Haga clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) en la barra de herramientas. • Siga los cuadros de diálogo de carga y cargue el instrumento en consonancia. • Confirme el cuadro de diálogo Loading Complete (carga completa) haciendo clic en **OK** (aceptar) o espere 10 segundos. El sistema realizará a continuación la serie de configuración de PCR automáticamente.
7. Finalizar la serie de configuración de PCR	• Asegúrese de que la bandeja de carga está vacía y confirme el cuadro de diálogo Run Finished (serie finalizada) haciendo clic en **OK** (aceptar). • Siga las instrucciones del cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento) y confirme con **OK** (aceptar). • Cierre y almacene los componentes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 y los tubos del FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5 que se puedan reutilizar. • Vea los resultados de la serie de configuración de PCR para confirmar el procesamiento correcto de cada muestra.
8. Sellar la placa PCR	• Selle la placa PCR con una lámina sellante para placas PCR.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Paso	Acción
9. Iniciar la serie PCR	• Encienda el CFX96™ DW Dx, el ordenador conectado y el monitor. • Inicie el CFX Manager™ Dx software. • Abra el CFX96™ DW Dx. • Centrifugue la placa PCR e insértela en el CFX96™ DW Dx. • Seleccione **File** → **Open** → **LIMS File…** (archivo → abrir → archivo de LIMS...) en la barra de menú. • Escanee el código de barras de la placa PCR con el escáner de código de barras de mano. • Cierre el CFX96™ DW Dx. • Haga clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) para iniciar la serie PCR. Ponga nombre al archivo de la serie PCR y guárdelo. El CFX96™ DW Dx realizará a continuación la serie PCR automáticamente.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Paso	Acción	
Paso	**Acción para el análisis de datos y la generación de informes con CFX Manager™ Dx software para la interpretación de resultados manual posterior o la exportación de resultados de PCR a un LIMS**	**Acción para el análisis de datos opcional y la interpretación de resultados automatizada utilizando FastFinder**
10. Separar ensayos para el análisis individual	• Separe todos los ensayos en la serie PCR en grupos de pocillos diferentes.	No es necesario.
11. Analizar los datos e interpretar los resultados de la serie PCR	Para cada grupo de pocillos individualmente: • Realice la corrección de la línea de base en todos los pocillos para todos los canales de detección utilizados. • Excluya los pocillos con señales de PCR irregulares. • Establezca los umbrales de todos los canales de detección conforme a los controles. • Excluya los pocillos que contengan datos no válidos. • Genere el archivo de resultados LIMS para exportar los resultados al LIMS. • Genere el informe de resultados para la interpretación de resultados manual.	• Utilice FastFinder Standalone y el plugin de ensayo FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para análisis de datos e interpretación de resultados automatizada.

PRECAUCIÓN

El almacenamiento de eluidos en condiciones incorrectas puede provocar la degradación de las secuencias objetivo de UP y/o MH y podría afectar al rendimiento del producto.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7.4.2 Preparación de una serie de AltoStar®

Para obtener información detallada sobre cómo iniciar una serie de AltoStar®, consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5, el AltoStar® Connect Software versión 2.0.10 o superior (Hamilton) y el AltoStar® AM16. A continuación figuran las configuraciones específicas para usar con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5:

- El volumen de muestra necesario depende del tipo de muestra. Para más información, consulte el capítulo 7.1 Volumen de muestra y protocolos de purificación.
- El volumen de eluido necesario para el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 es de 10 µl.
- Asegúrese de que se usa la versión correcta de protocolo de ensayo para la serie. Para obtener más información sobre la versión del protocolo actual, consulte el capítulo 17. Protocolo de ensayo para el AltoStar® Connect Software e información para la integración de LIMS. El protocolo de ensayo respectivo está codificado en el código de barras en 2D que se muestra allí. Para obtener más información sobre la importación del protocolo de ensayo y purificación en el AltoStar® Connect Software, consulte las instrucciones de uso pertinentes.

PRECAUCIÓN



No use una versión del protocolo de ensayo distinta de la indicada en el código de barras 2D de estas instrucciones de uso. Si se utiliza una versión incorrecta del protocolo de ensayo, el buen funcionamiento del producto podría verse afectado.

7.4.3 Inicio de una serie de configuración de PCR

1. Seleccione **PCR Setup** → **Start PCR Setup Run** (configuración de PCR → iniciar configuración de PCR) en la barra de menú. De forma alternativa, vuelva a la pantalla Home (inicio) del AltoStar® Connect Software y seleccione el botón **PCR Setup** (configuración de PCR). Se muestra la pantalla PCR Setup – Start PCR Setup Run (configuración de PCR - iniciar configuración de PCR).

Las series de configuración de PCR pendientes se muestran en la tabla PCR Setups (configuraciones de PCR) en la parte izquierda de la pantalla.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

2. Seleccione la serie de configuración de PCR que desea iniciar en la tabla PCR Setups (configuraciones de PCR).

   - Las muestras incluidas en la serie de configuración de PCR seleccionada se muestran en la tabla de la parte superior derecha de la pantalla [Samples in Selected PCR Setup (muestras en la configuración de PCR seleccionada)].
   - Los controles necesarios para la serie de configuración de PCR seleccionada se muestran en la tabla de la parte central derecha de la pantalla [Controls in Selected PCR Setup (controles en la configuración de PCR seleccionada)].
   - El volumen necesario de Detection Mix y Amplification Mix para la serie de configuración de PCR seleccionada se muestra en la tabla de la parte inferior derecha de la pantalla [Required Master Tubes for the Selected PCR Setup (tubos maestros necesarios para la configuración de PCR seleccionada)].

Antes de hacer clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) de la barra de herramientas, prepare los reactivos necesarios como se describe en el capítulo 7.4.3.1 Preparación de reactivos para una serie de configuración de PCR. Si la placa de eluidos necesaria para la serie de configuración de PCR seleccionada se ha sellado para su almacenamiento, prepárela como se describe en las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

7.4.3.1 Preparación de reactivos para una serie de configuración de PCR

1. Descongele los controles necesarios y el número necesario de tubos de Detection Mix y Amplification Mix completamente a temperatura ambiente (máx. +30 °C).
2. Mezcle los reactivos aplicando un vortex suave.
3. Centrifugue los tubos brevemente para quitar las gotas de la tapa.

PRECAUCIÓN



La ausencia de centrifugación de los componentes del producto tras la descongelación podría provocar la contaminación con restos de reactivos en las tapas y podría afectar al rendimiento del producto.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7.4.3.2 Carga del AltoStar® AM16 para una serie de configuración de PCR

Para obtener información más detallada sobre el proceso de carga, consulte las instrucciones de uso del AltoStar® AM16 (sistema de automatización) y del AltoStar® Connect Software.

1. Haga clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) en la barra de herramientas de la pantalla PCR Setup – Start PCR Setup Run (configuración de PCR - iniciar configuración de PCR) para mostrar el cuadro de diálogo Loading (cargando).

El cuadro de diálogo Loading (cargando) se compone de una representación visual de la plataforma del AltoStar® AM16 a la izquierda y una tabla que especifica los carriers, los raíles respectivos en la plataforma del AltoStar® AM16 para cada carrier, el material para cada carrier y comentarios sobre la carga de los carriers.

NOTA

Para visualizar la posición de un elemento en un carrier y la posición del carrier en la plataforma del AltoStar® AM16, seleccione la fila respectiva en la tabla del cuadro diálogo Loading (cargando).

Se visualiza la posición del elemento y de su carrier:

- Resaltada en negro en la representación visual de la plataforma del instrumento
- En el AltoStar® AM16, haciendo que parpadeen las luces de carga sobre los raíles en los que debe colocarse el carrier seleccionado

2. Cargue el material necesario, la placa de eluidos preparada y los reactivos preparados en los carriers adecuados.

   - Únicamente cambie racks de puntas de 1000 µl **completamente vacíos** por racks de puntas de 1000 µl **completamente llenos** en el carrier de puntas.
   - Únicamente cambie racks de puntas de 300 µl **completamente vacíos** por racks de puntas de 300 µl **completamente llenos** en el carrier de puntas y placas.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

NOTA

El intercambio de racks de puntas que no están completamente vacíos y la manipulación de puntas individuales puede interferir con la gestión automática de las puntas y provocar cancelaciones de las series.

- Coloque la placa de eluidos necesaria con el pocillo A1 a la izquierda de la posición de la placa negra.
- Coloque una placa PCR con el pocillo A1 a la izquierda de la posición de la placa frontal plateada.
- Cargue un carrier de tubo 24 con un tubo de pooling sin utilizar para cada ensayo en la serie de configuración de PCR.
- Empuje suavemente los tubos hasta la parte inferior del carrier y gire los tubos hasta que los códigos de barras de los tubos se vean a través de la ventana del carrier.
- Cargue el carrier de tubos de reactivo 32 con los componentes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 y la Amplification Mix necesario para la serie de configuración de PCR.
- Empuje suavemente los tubos hasta la parte inferior del carrier y gire los tubos hasta que los códigos de barras de los tubos se vean a través de la ventana del carrier.

NOTA

La posición de los tubos individuales en los carriers es arbitraria.

NOTA

El sistema no comprueba el volumen de los componentes cargados antes del procesamiento. Un volumen de componentes insuficiente impedirá la correcta configuración de PCR para el ensayo en cuestión.

NOTA

Iniciar una serie de configuración de PCR con las tapas aún puestas en los tubos provocará que la serie se cancele durante el procesamiento.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

3. Cargue los carriers con el código de barras del carrier hacia la parte posterior mirando a la derecha.
4. Inserte los carriers rellenados en los raíles respectivos entre los bloques deslizantes delanteros y traseros de la bandeja de carga hasta que toquen los ganchos de parada en la parte alejada de la bandeja.

NOTA

Empujar los carriers más allá de los ganchos de parada puede dañar el instrumento e interferir con el proceso de carga.

5. Compruebe que la hoja de eyección de puntas y el contenedor de puntas desechadas estén en la posición correcta y que se haya colocado una nueva bolsa de desechos en el contenedor.
6. Haga clic en **OK** (aceptar) en el cuadro de diálogo Loading (cargando) para continuar con el proceso de carga.

NOTA

Al hacer clic en **Cancel** (cancelar), se cancelará la serie de configuración de PCR, pero puede volver a iniciarse (consulte el capítulo 7.4.3 Inicio de una serie de configuración de PCR).

El AltoStar® AM16 introduce los carriers en el instrumento y realiza la verificación del código de barras.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

NOTA

El AltoStar® AM16 verifica automáticamente:

- Tipo y localización correctos de los carriers cargados
- Identidad y posición correctas de los elementos cargados en los carriers
- Congruencia de lote de los componentes de los productos FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 individuales
- Número de usos de los tubos de reactivo
- No caducidad de todos los componentes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 cargados
- Posición correcta de la hoja de eyección de puntas

Si no se supera alguna de estas comprobaciones, se presenta al usuario un cuadro de diálogo de mensaje que especifica el problema en cuestión, con instrucciones para corregirlo adecuadamente. Para obtener más información sobre la gestión de errores, consulte las instrucciones de uso del AltoStar® Connect Software.

NOTA

Alterar la posición de algún elemento cargado cuando el carrier ya se ha introducido en el instrumento puede provocar la cancelación de la serie de configuración de PCR, daños en el instrumento y/o análisis incorrectos.

Cuando se hayan superado todas las comprobaciones, se muestra el cuadro de diálogo Loading Complete (carga completa).

7. Confirme el cuadro de diálogo Loading Complete (carga completa) haciendo clic en **OK** (aceptar) o espere 10 segundos a que se produzca el inicio automático del proceso.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

NOTA

Al hacer clic en **Cancel** (cancelar), se cancelará la serie de configuración de PCR, pero puede volver a iniciarse (consulte el capítulo 7.4.3 Inicio de una serie de configuración de PCR).

Se inicia la serie de configuración de PCR, que se realizará sin interacción del usuario.

7.4.3.3 Durante la serie de configuración de PCR

No se requiere más interacción del usuario hasta que finaliza la serie de configuración de PCR. Se abre la pantalla PCR Setup – Current PCR Setup (configuración de PCR - configuración de la PCR actual), que muestra el estado de la serie de configuración de PCR y una estimación del tiempo restante.

NOTA

Empujar los carriers o tirar de ellos o de la puerta del AltoStar® AM16 durante una serie de configuración de PCR podría anular la serie.

7.4.4 Fin de la serie de configuración de PCR

Al final de la serie de configuración de PCR, se muestra el cuadro de diálogo Run Finished (serie finalizada).

1. Asegúrese de que la bandeja de carga está vacía.
2. Confirme el cuadro de diálogo Run Finished (serie finalizada) haciendo clic en **OK** (aceptar).

El AltoStar® AM16 descargará los carriers. Asegúrese de no interponerse en el recorrido de los carriers que están descargándose.

Tras la descarga, se muestra el cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento).

3. Siga las instrucciones del cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

La tabla del cuadro de diálogo muestra el volumen restante en los tubos de Detection Mix y Amplification Mix que no se han utilizado en la serie de configuración de PCR.

4. Si se va a iniciar inmediatamente otra serie de configuración de PCR que utiliza la placa de eluidos cargada actualmente, la placa de eluidos puede permanecer sin sellar en la posición del carrier. Si **no** es el caso, selle y almacene la placa de eluidos. Para obtener más información, consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

PRECAUCIÓN

El almacenamiento de eluidos en condiciones incorrectas puede provocar la degradación de las secuencias objetivo de UP y/o MH y podría afectar al rendimiento del producto.

NOTA

Los eluidos de la placa de eluidos son estables a temperatura ambiente (máx. +30 °C) durante un total de 4 horas tras completarse la serie de purificación. Una vez sellados con lámina sellante para placas de eluidos, los eluidos son estables a una temperatura de +2 °C a +8 °C durante un máximo de 24 horas.

5. Cierre los tubos de reactivo con los tapones de tubos adecuados sin usar.

PRECAUCIÓN

No reutilice los tapones de tubos para evitar la contaminación de los reactivos, ya que podría afectar al rendimiento del producto.

6. Almacene los reactivos para su reutilización (consulte el capítulo 4.2 Manipulación).
7. Deseche los materiales utilizados (consulte el capítulo 10. Eliminación).
8. Confirme el cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento) haciendo clic en **OK** (aceptar).

7.4.4.1 Resultados de serie de configuración de PCR

Los resultados de serie de configuración de PCR se guardan en el AltoStar® Connect Software.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

1. Haga clic en **PCR Setup** → **PCR Setup Results** (configuración de PCR → resultados de la configuración de PCR) en la barra de menú para acceder a la pantalla PCR Setup – PCR Setup Results (configuración de PCR - resultados de la configuración de PCR).

La pantalla PCR Setup – PCR Setup Results (configuración de PCR - resultados de la configuración de PCR) muestra una tabla con todas las muestras utilizadas en la última serie de configuración de PCR y una columna de **PCR Setup Status** (estado de configuración de PCR) a la derecha que indica si se ha realizado completamente el proceso de configuración de PCR para una muestra concreta (consulte la tabla 6).

Tabla 6: Resultado de serie de configuración de PCR

Estado	Resultado de serie de configuración de PCR
Done (completado)	• El eluido se ha procesado correctamente en la serie de configuración de PCR. • La mezcla de PCR resultante está lista para su uso en una serie PCR.
Error (error)	• El eluido no se ha procesado correctamente. • La mezcla de PCR respectiva se omitirá automáticamente en el siguiente análisis de PCR.

2. Para ver los resultados de series de configuración de PCR anteriores, haga clic en el botón **Load Results** (cargar resultados) de la barra de herramientas, seleccione la serie de configuración de PCR deseada en la lista del cuadro de diálogo Load Results (cargar resultados) que se abre y haga clic en **OK** (aceptar).

El AltoStar® Connect Software genera automáticamente tres archivos de resultado de serie de configuración de PCR:

- Un archivo LIMS (.XML) para transferir información detallada sobre la serie de configuración de PCR, incluidos los resultados de nuevo al LIMS
- Un informe (.PDF) que contiene información detallada sobre la serie de configuración de PCR, incluidos los resultados para fines de documentación
- Un archivo de ciclador (.PLRN) para la programación automática del CFX96™ DW Dx

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Estos archivos se guardan en la ubicación especificada en los ajustes del sistema del AltoStar® Connect Software.

NOTA

Los archivos de resultado de serie de configuración de PCR pueden volver a generarse cargando la serie de configuración de PCR respectiva y haciendo clic en el botón **Get LIMS File** (obtener archivo del LIMS) para generar el archivo LIMS, en el botón **Get Report** (obtener informe) para generar el informe o en el botón **Get Bio-Rad Cycler File** (obtener archivo del termociclador Bio-Rad) para generar el archivo de ciclador.

7.4.5 Sellado de la placa PCR

Tras completar la serie de configuración de PCR, la placa PCR debe sellarse con una lámina sellante para placas PCR. Se recomienda usar el AltoStar® Plate Sealer (sellador de placas) [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)] o el PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad). La idoneidad de los selladores de placas distintos a los recomendados debe evaluarla el usuario.

Si va a utilizar los selladores de placas recomendados, proceda de este modo:

1. Encienda el sellador de placas y asegúrese de que el adaptador de placas no está en el cajón.
2. Asegúrese de que los ajustes del sellador de placas son los siguientes:

Tabla 7: Ajustes del sellador de placas

Sellador de placas	Configuración	
	Temperatura [°C]	Tiempo [s]
AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]	170	2
PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)	175	3

3. Espere a que se alcance la temperatura configurada. Esto puede tardar unos minutos.
4. Coloque la placa PCR sobre el adaptador de placas del sellador de placas.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

5. Coloque una lámina sellante para placas PCR en la placa PCR de modo que se pueda leer la impresión «THIS SIDE UP» (este lado hacia arriba). Asegúrese de que todos los pocillos de la placa PCR están cubiertos por la lámina y de que la escritura no oculte ninguno de ellos.

NOTA

Si se usa el sellador de placas sin el adaptador de placas colocado en el cajón, el sellador puede averiarse. En este caso, póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics para conseguir asistencia (consulte el capítulo 12. Soporte técnico).

NOTA

Si la lámina sellante para placas PCR o el bastidor están mal colocados, la lámina podría quedarse pegada a la placa calentadora del interior del sellador de placas durante el sellado. Esto inutilizará el sellador. En este caso, o si se ha iniciado el paso de sellado sin la lámina sellante para placas PCR, deje que el sellador de placas se enfríe hasta alcanzar la temperatura ambiente y póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics para que le ayuden (consulte el capítulo 12. Soporte técnico).

6. Ensamble el bastidor de sellado en la parte superior para sujetar la lámina sellante.
7. Abra el cajón pulsando el botón **Operate** (operar)*/ ⏏**.
8. Coloque el ensamblaje que se compone del adaptador de placas, la placa PCR, la lámina sellante para placas PCR y el bastidor de sellado en el sellador de placas y pulse el botón **Operate** (operar)*/ ⏏**.
9. El cajón se cierra automáticamente, sella durante el tiempo configurado y se vuelve a abrir automáticamente.
10. Saque la placa PCR sellada y el adaptador de placas del sellador de placas y cierre el sellador de placas pulsando el botón **Close** (cerrar)*/ ⏏**.

* AltoStar® Plate Sealer (sellador de placas) [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]

** PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7.4.5.1 Estabilidad de la mezcla de PCR

Tras completarse la serie de configuración de PCR, la mezcla de PCR de la placa PCR sellada es estable a temperatura ambiente (máx. +30 °C) durante 30 minutos.

PRECAUCIÓN



No supere el tiempo de almacenamiento de la mezcla de PCR, ya que podría afectar al buen funcionamiento del producto.

7.4.6 Inicio de una serie PCR

La serie PCR se realiza en un CFX96™ DW Dx bajo el control del CFX Manager™ Dx software.

1. Encienda el CFX96™ DW Dx, el ordenador conectado y el monitor.
2. Inicie el CFX Manager™ Dx software.
3. En la barra de menú del CFX Manager™ Dx software, seleccione **File** → **Open** → **LIMS File…** (archivo → abrir → archivo LIMS…) para abrir el cuadro de diálogo Open LIMS File (abrir archivo LIMS).
4. En el cuadro de diálogo Open LIMS File (abrir archivo LIMS) que se abre, asegúrese de que el cursor está parpadeando en el campo **File name** (nombre de archivo) en la parte inferior. Si no es así, haga clic en el campo **File name** (nombre de archivo).
5. Escanee el código de barras de la placa PCR con el escáner de código de barras de mano para seleccionar y abrir automáticamente el archivo LIMS correcto. Se muestra el cuadro de diálogo Run Setup (configuración de la serie).

NOTA

Todos los parámetros necesarios para el inicio de la serie PCR se transfieren automáticamente desde el AltoStar® Connect Software al CFX96™ DW Dx mediante el archivo de ciclador.

6. Haga clic en el botón **Open Lid** (abrir tapa) en el cuadro de diálogo Run Setup (configuración de la serie) para abrir la tapa del CFX96™ DW Dx.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7. Centrifugue brevemente la placa PCR sellada para asegurarse de que todo el líquido se quede en el fondo de los pocillos.
8. Inserte la placa PCR sellada en el bloque calentador del CFX96™ DW Dx con el pocillo A1 a la izquierda.
9. Cierre el CFX96™ DW Dx haciendo clic en el botón **Close Lid** (cerrar tapa) en el cuadro de diálogo Run Setup (configuración de la serie).
10. Inicie la serie PCR haciendo clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) en el cuadro de diálogo Run Setup (configuración de la serie).

7.4.6.1 Durante la serie PCR

No se requiere interacción del usuario hasta que finaliza la serie PCR. Se abre el cuadro de diálogo Run Details (detalles de la serie) que muestra el estado de la serie PCR y una estimación del tiempo restante.

NOTA

Abrir la tapa del CFX96™ DW Dx durante una serie PCR operando el botón de la parte frontal de la tapa o haciendo clic en **Open Lid** (abrir tapa) en el cuadro de diálogo Run Details (detalles de la serie) cancelará la serie y se invalidarán todos los resultados.

Al final de una serie PCR, se muestra la ventana Data Analysis (análisis de datos), la cual muestra las curvas de amplificación, la disposición de la placa y los resultados.

7.4.7 Análisis de datos PCR utilizando CFX Manager™ Dx software

Los resultados de todos los ensayos (grupos de pocillos) en la placa PCR deben analizarse en la secuencia que se indica en la figura 1.

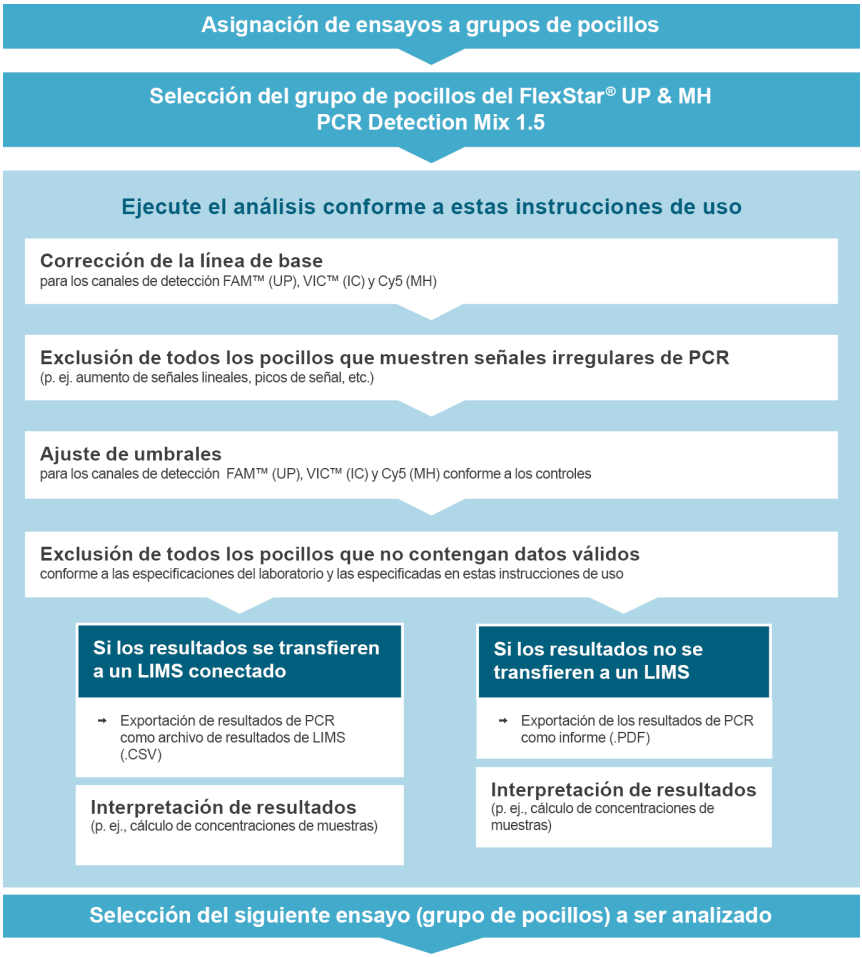


Figura 1: Proceso de análisis de datos PCR utilizando CFX Manager™ Dx software

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7.4.7.1 Asignación de ensayos a grupos de pocillos

El AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) procesa uno o varios ensayos PCR simultáneamente en una placa PCR. Sin embargo, el usuario debe analizar cada ensayo por separado conforme a las instrucciones de uso del ensayo respectivo.

Con este fin, el usuario debe asignar todos los ensayos de una placa PCR a grupos de pocillos individuales en el CFX Manager™ Dx software.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), haga clic en el botón **Plate Setup** (configuración de la placa) en la barra de herramientas y seleccione **View/Edit Plate** (ver/editar placa). Se muestra el cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa) (consulte la figura 2).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

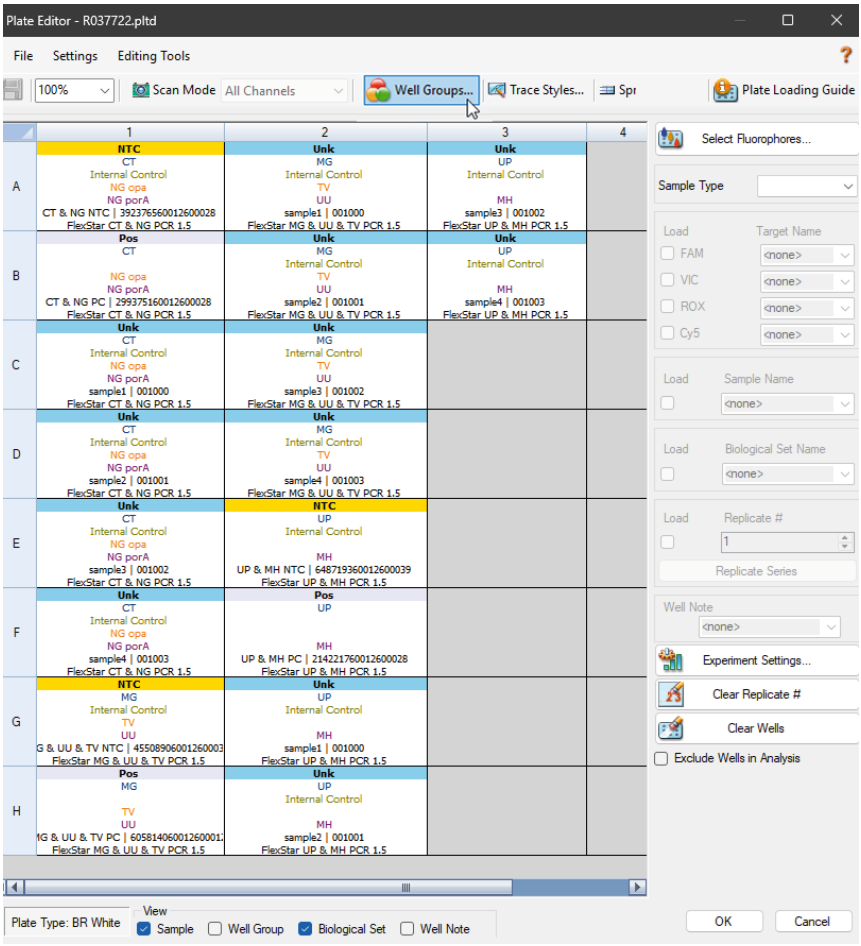


Figura 2: Ejemplo de cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa)

2. En el cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa), haga clic en **Well Groups…** (grupos de pocillos...) en la barra de herramientas. Se muestra el cuadro de diálogo Well Groups Manager (gestor de grupos de pocillos) (consulte la figura 3).
3. Haga clic en el botón **Add** (añadir).
4. Escriba el nombre del primer ensayo en el cuadro de texto.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

5. Seleccione todos los pocillos en el área de la placa PCR que pertenezcan al primer ensayo (consulte la figura 3). Los pocillos que pertenecen a un ensayo individual pueden identificarse en el cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa) mediante la entrada del campo **Biological Set** (conjunto biológico).

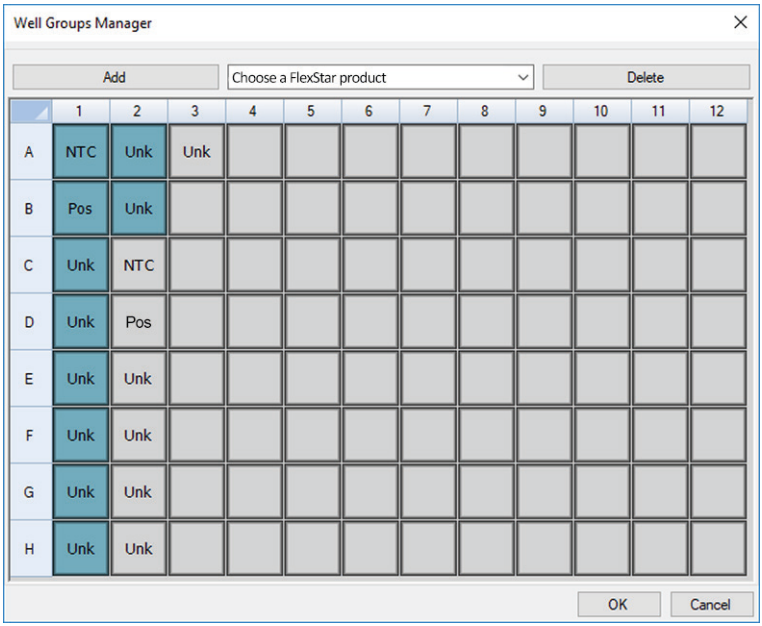


Figura 3: Ejemplo del cuadro de diálogo Well Groups Manager (gestor de grupos de pocillos)

6. Repita los pasos del 3 al 5 para todos los ensayos en la placa PCR.
7. Confirme la asignación de grupos de pocillos haciendo clic en **OK** (aceptar). Se cierra el cuadro de diálogo Well Groups Manager (gestor de grupos de pocillos).
8. Cierre el cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa) haciendo clic en **OK** (aceptar).
9. Confirme para aplicar los cambios haciendo clic en **Yes** (sí).

En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas. No utilice el **Well Group** (grupo de pocillos) «*All Wells*» (todos los pocillos).

Antes de analizar los resultados, asegúrese de que el grupo de pocillos del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 contiene todos los pocillos del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 y ningún pocillo de otros ensayos.

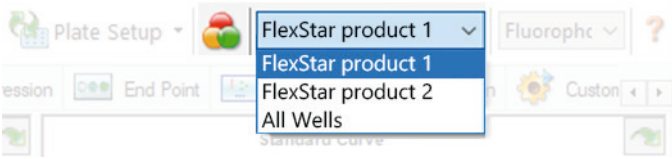


Figura 4: Ejemplo de botón Well Group (grupo de pocillos) y menú desplegable Well Group (grupo de pocillos)

NOTA

Los análisis combinados de más de un ensayo pueden arrojar resultados incorrectos.

PRECAUCIÓN

Como con cualquier test diagnóstico, los resultados se interpretarán teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

7.4.7.2 Corrección de la línea de base

Es posible que sea necesario corregir los ajustes de línea de base utilizados por el CFX Manager™ Dx software para pocillos individuales del ensayo [**Well Group** (grupo de pocillos)] que se están analizando.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.
2. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos), marque únicamente la casilla de verificación **FAM™** para el canal de detección objetivo de UP.
3. En la barra de menú de la ventana Data Analysis (análisis de datos), haga clic en **Settings** → **Baseline Threshold…** (ajustes → umbral de línea de base...) para abrir el cuadro de diálogo Baseline Threshold (umbral de línea de base) (consulte la figura 5).
4. Haga clic una vez en el símbolo ◊ en el encabezado de columna **Baseline End** (final de línea de base) para ordenar la tabla por valores ascendentes de **Baseline End** (final de línea de base).
5. Seleccione todas las líneas que muestren un valor de **Baseline End** (final de línea de base) de 1 a 9 (consulte la figura 5).

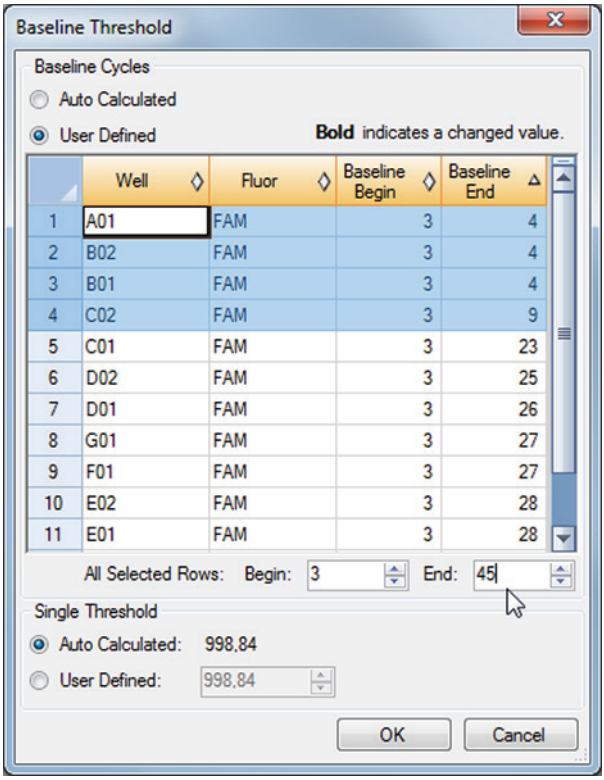


Figura 5: Cuadro de diálogo Baseline Threshold (umbral de línea de base)

6. Establezca el valor en el campo **End:** (final:) en 45 para las líneas seleccionadas (consulte la figura 5).
7. Confirme los ajustes haciendo clic en **OK** (aceptar).
8. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos), quite la marca de la casilla de verificación **FAM™** y marque la casilla de uno de los otros canales de detección objetivo.
9. Repita los pasos del 3 al 7 para los canales de detección VIC™ (IC) y Cy5 (MH objetivo).

7.4.7.3 Exclusión de señales de PCR irregulares

Los resultados válidos solo pueden derivarse de señales de PCR que estén libres de artefactos de señales, que pueden ser provocados, por ejemplo, por impurezas o burbujas en la mezcla de PCR. El usuario debe excluir las señales de PCR que contengan artefactos de señales.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.

2. Identifique pocillos con señales de PCR irregulares (aumento de señal lineal, picos de señal, etc.) en cualquiera de los canales de detección de FAM™ (UP objetivo), VIC™ (IC) o Cy5 (MH objetivo) (consulte la figura 6).

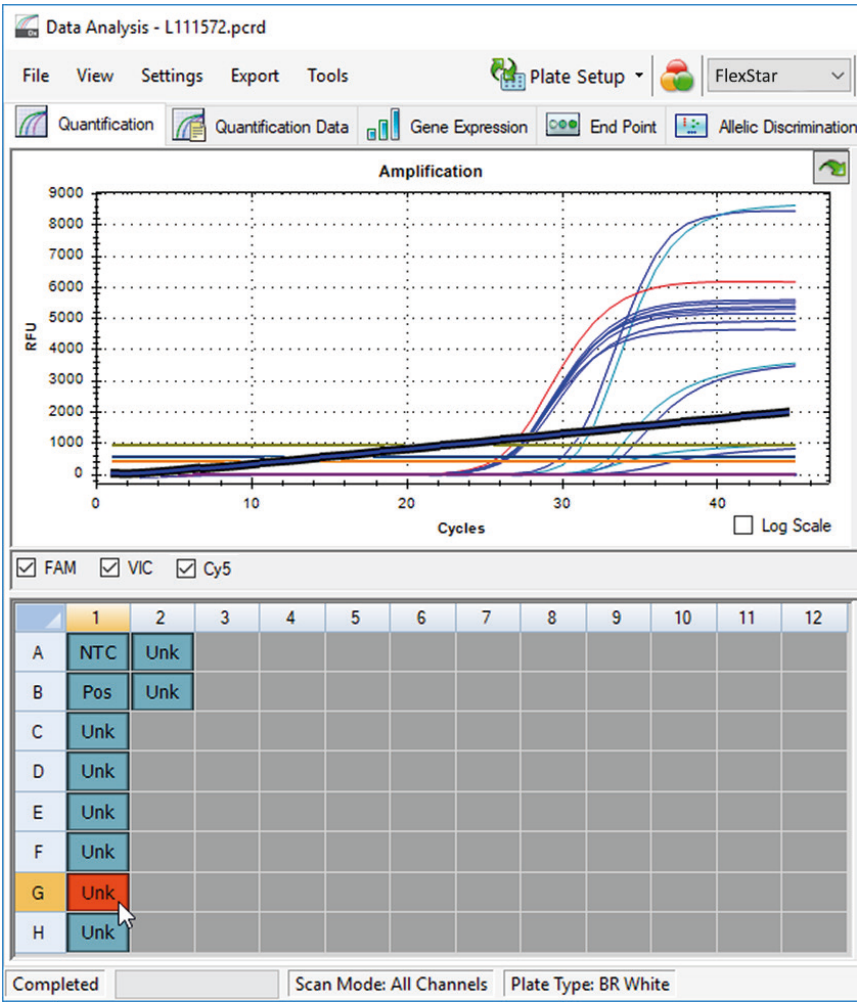


Figura 6: Ejemplo de ventana Data Analysis (análisis de datos): señal de PCR irregular

3. Haga clic en cada pocillo afectado con el botón derecho del ratón y seleccione **Well... → Exclude from Analysis** (pocillo... → excluir del análisis) (consulte la figura 7).

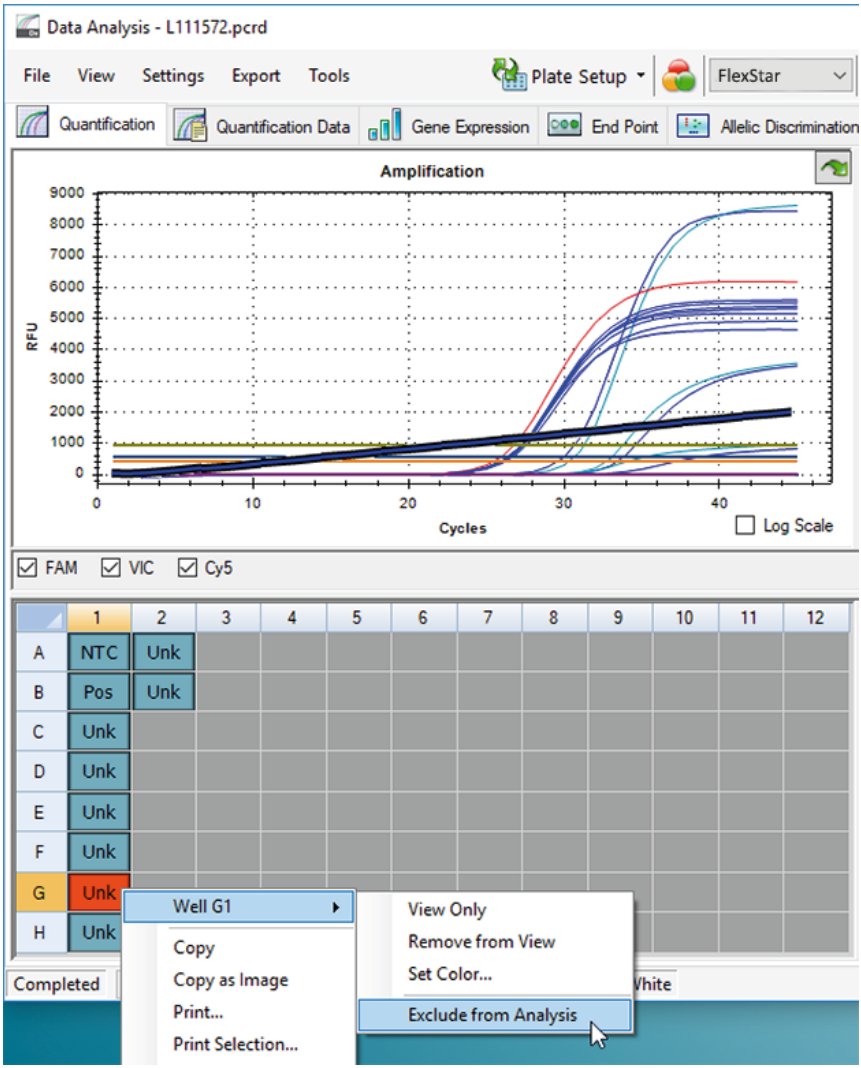


Figura 7: Ejemplo de ventana Data Analysis (análisis de datos): excluir pocillo del análisis

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

4. El pocillo seleccionado se excluye del análisis. No se generarán resultados para este pocillo (consulte la figura 8).

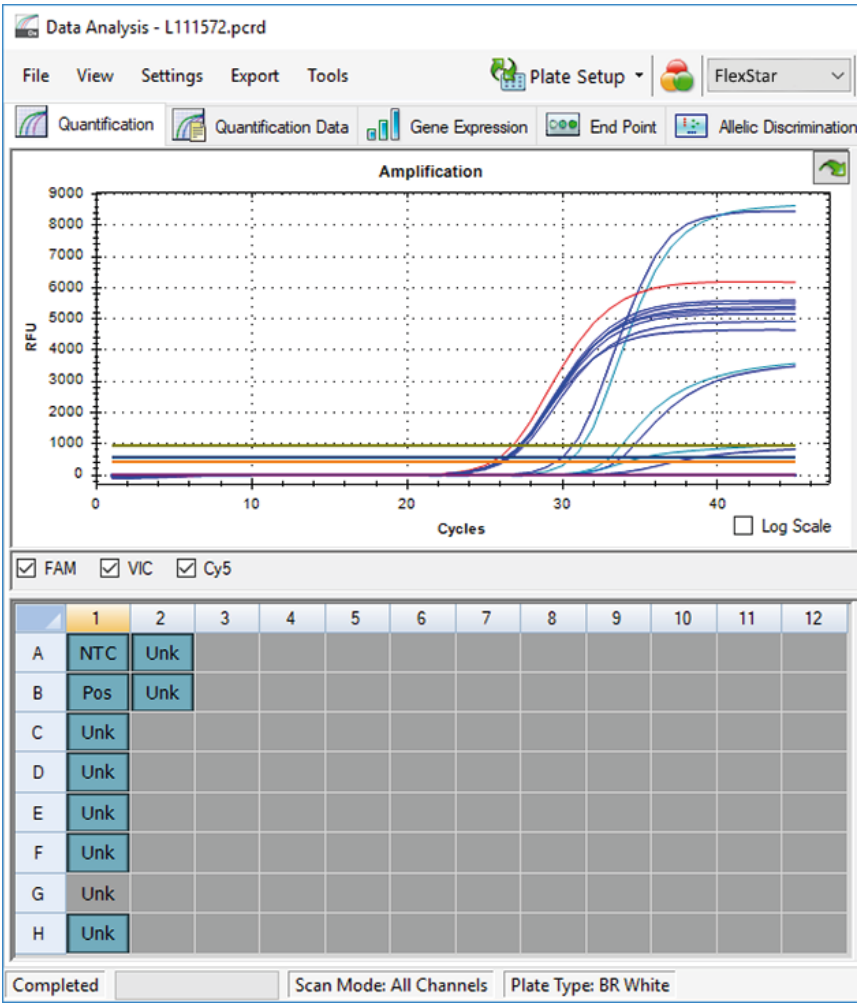


Figura 8: Ejemplo de ventana Data Analysis (análisis de datos): pocillo excluido

7.4.7.4 Ajuste de umbrales

Los umbrales para los canales de detección FAM™ (UP objetivo), VIC™ (IC) y Cy5 (MH objetivo) debe ajustarlos manualmente el usuario conforme a las señales de los controles.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.

2. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos), marque únicamente la casilla de verificación **VIC™** para el canal de detección del IC (consulte la figura 9).

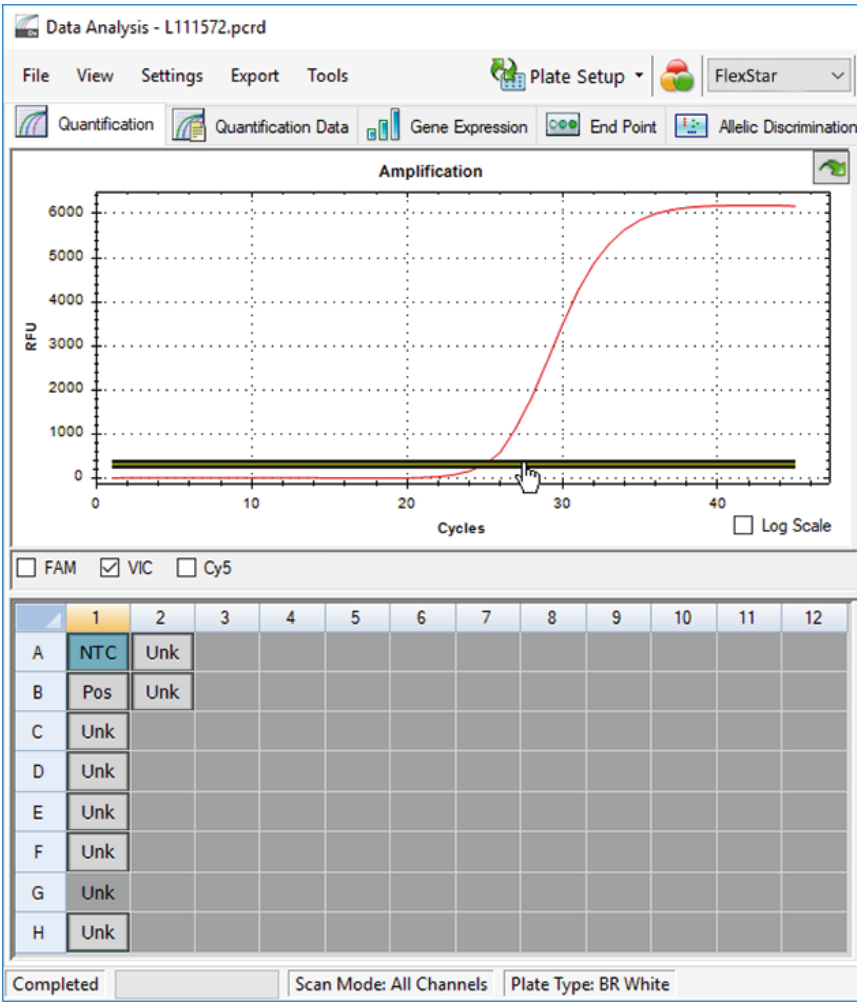


Figura 9: Ejemplo de ventana Data Analysis (análisis de datos): configuración del umbral VIC™

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

3. Seleccione únicamente el pocillo de NTC en la vista de placa de la ventana Data Analysis (análisis de datos) (consulte la figura 9).
4. Arrastre el umbral hasta el área exponencial de la señal de NTC (consulte la figura 9).

NOTA

El NTC contiene la plantilla del IC, que produce una señal de IC en un pocillo de NTC válido.

5. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos), quite la marca de la casilla de verificación **VIC™** y marque la casilla **FAM™** para el canal de detección de UP objetivo (consulte la figura 10).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

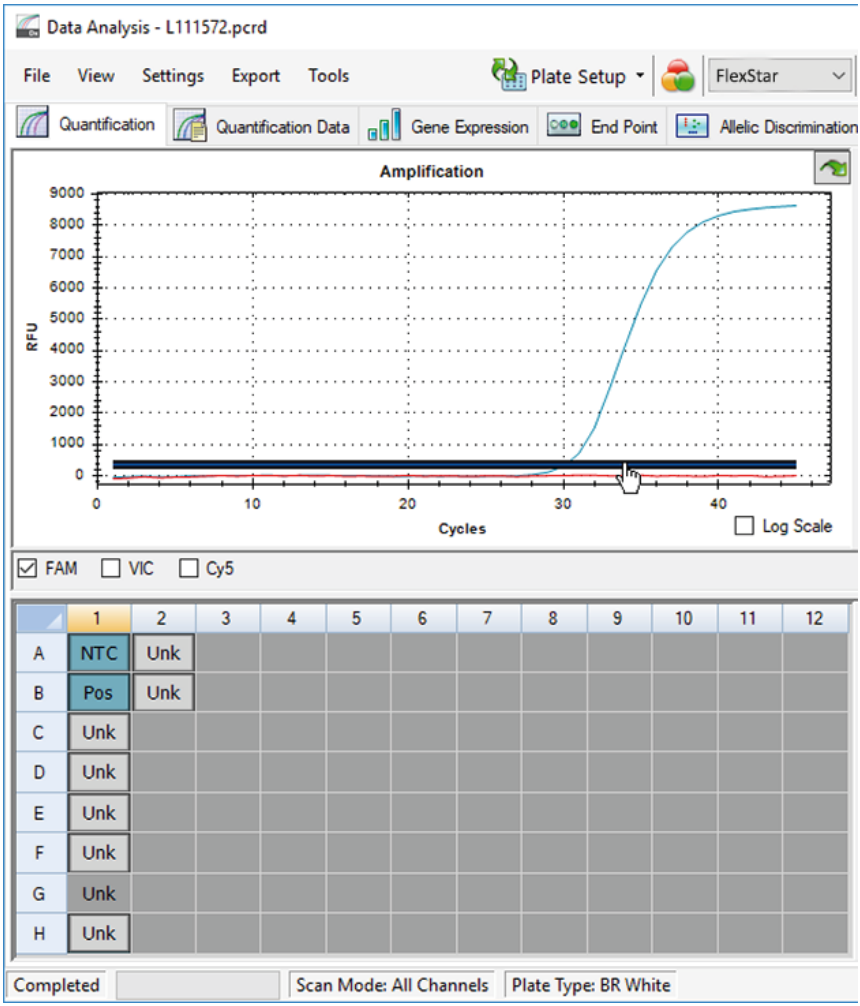


Figura 10: Ejemplo de ventana Data Analysis (análisis de datos): configuración del umbral FAM™

6. Seleccione únicamente los pocillos que contienen el NTC y el PC en la vista de placa de la ventana Data Analysis (análisis de datos) (consulte la figura 10).
7. Arrastre el pocillo de umbral por encima de la señal del NTC hacia el área exponencial de la señal de PC (consulte la figura 10).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

8. Para el canal de detección de MH objetivo, quite la marca de la casilla de verificación **FAM™** en la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos), marque la casilla de verificación **Cy5** y repita los pasos 6 y 7.

7.4.8 Validez de los resultados de PCR

7.4.8.1 Exclusión de pocillos que contengan datos no válidos

El usuario debe excluir los pocillos que no contienen datos válidos de la generación de resultados.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.
2. Identifique todos los pocillos que contengan datos no válidos. Un pocillo no es válido si existe cualquiera de las condiciones siguientes:

    a) La serie completa no es válida (consulte el capítulo 7.4.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico).

    b) Los datos de pocillos no cumplen las condiciones de control para un resultado válido (consulte el capítulo 7.4.8.3 Validez de los resultados para una muestra).

3. Haga clic en cada pocillo que contenga datos no válidos conforme a los capítulos que van desde el 7.4.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico hasta el 7.4.8.3 Validez de los resultados para una muestra con el botón derecho del ratón y seleccione **Well...** → **Exclude from Analysis** (pocillo... → excluir del análisis) (consulte la figura 11 y la figura 12).

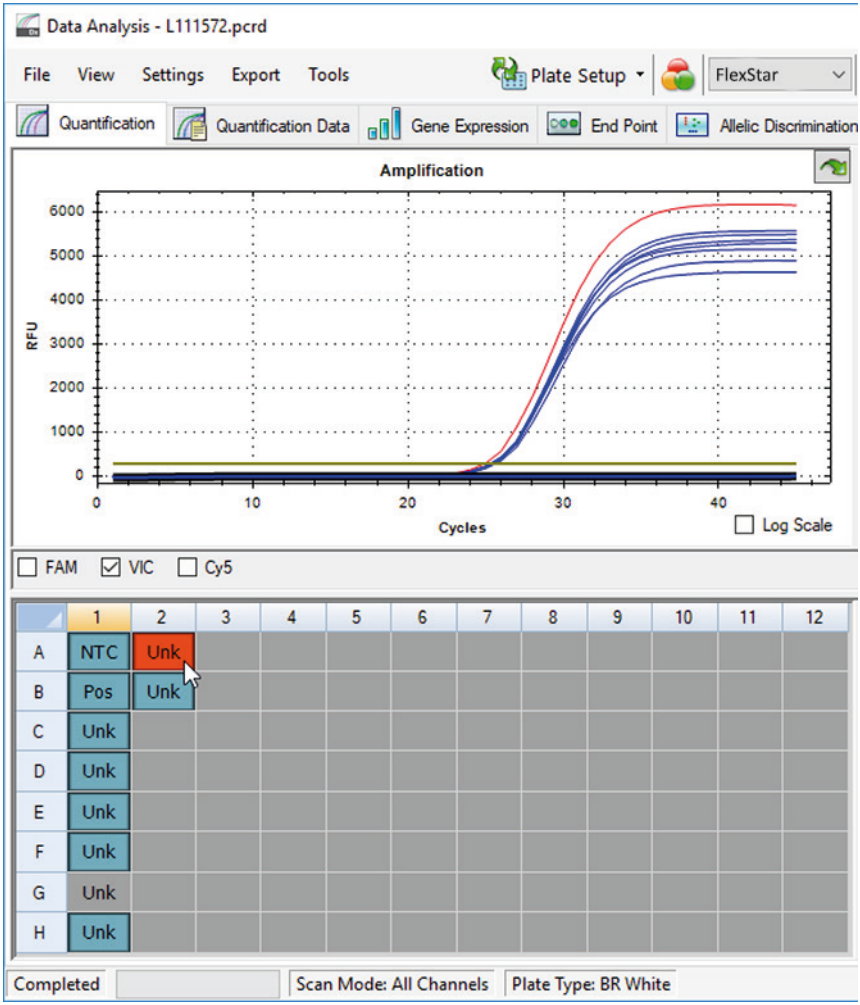


Figura 11: Ejemplo de ventana Data Analysis (análisis de datos): pocillo no válido

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

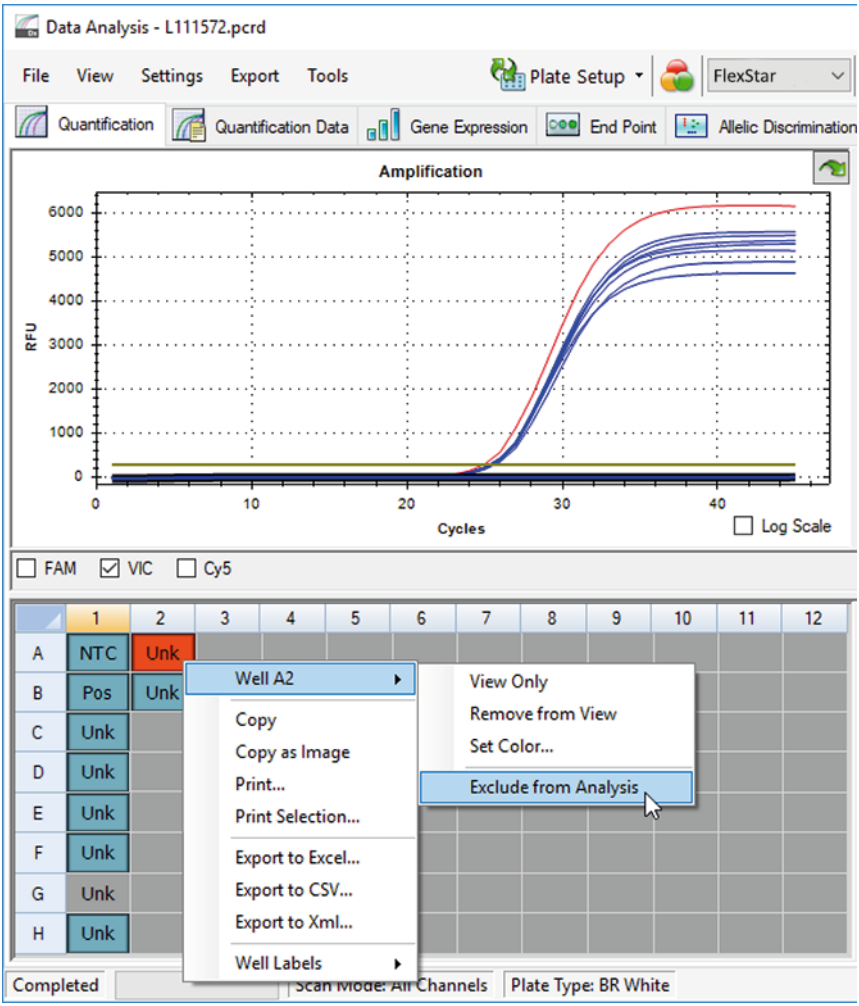


Figura 12: Ejemplo de ventana Data Analysis (análisis de datos): exclusión de un pocillo no válido del análisis

El pocillo seleccionado se excluye del análisis. No se generarán resultados para este pocillo.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

7.4.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico

Una serie PCR de diagnóstico es **válida** si se cumplen las siguientes condiciones de control:

Tabla 8: Condiciones de control para una serie PCR válida

Control	Canal de detección		
	FAM™ (UP objetivo)	Cy5 (MH objetivo)	VIC™ (IC)
Control positivo	+	+	No aplicable
NTC	-	-	+

Una serie PCR de diagnóstico **no es válida** si:

- No se ha completado la serie.
- No se cumple alguna de las condiciones de control para una serie PCR de diagnóstico válida.

En caso de serie PCR de diagnóstico no válida, excluya todos los pocillos del análisis y repita la serie de AltoStar® empezando por las muestras originales.

7.4.8.3 Validez de los resultados para una muestra

El resultado de una muestra individual **no es válido** si las señales de los canales de detección VIC™ (IC), FAM™ (UP objetivo) y Cy5 (MH objetivo) son negativas (consulte la tabla 9). En caso de resultado no válido para una muestra, excluya el pocillo del análisis y repita el análisis por la muestra original o recoja y analice una nueva muestra.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Tabla 9: Validez del resultado

Canal de detección			Validez del resultado
FAM™ (UP objetivo)	Cy5 (MH objetivo)	VIC™ (IC)	
+ en uno o varios canales objetivo		+/-*	Resultado válido
-	-	+	Resultado válido
-	-	-	**Resultado no válido**

* La detección del IC no es necesaria cuando se detecta el UP y/o MH objetivo. Una elevada carga de ADN de UP y/o de MH en la muestra puede dar lugar a señales reducidas o ausentes del IC.

7.4.9 Exportación de resultados de PCR sin transferencia a un LIMS

El usuario debe realizar la interpretación de resultados manualmente. Con ese fin, los resultados de análisis de cada ensayo (grupo de pocillos) deben exportarse en forma de informe.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.
2. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos), marque la casilla de verificación **VIC™** y las casillas **FAM™** y **Cy5**.
3. Asegúrese de que se hayan completado todos los pasos del proceso de análisis (consulte los capítulos del 7.4.7.2 Corrección de la línea de base al capítulo 7.4.8.1 Exclusión de pocillos que contengan datos no válidos) para el grupo de pocillos del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.
4. En la barra de menú de la ventana Data Analysis (análisis de datos), haga clic en **Tools** → **Reports…** (herramientas → informes...) para abrir el cuadro de diálogo Report (informe).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

5. Asegúrese de seleccionar al menos el siguiente contenido para la generación de informes en la parte superior izquierda del cuadro de diálogo Report (informe) (consulte la figura 13):

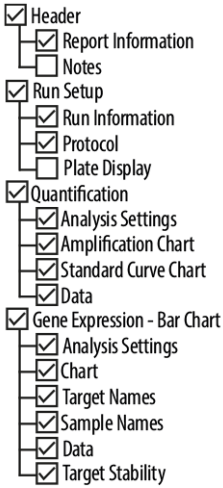


Figura 13: Cuadro de diálogo Report (informe)

6. Seleccione o anule la selección del contenido adicional del informe marcando las casillas de verificación respectivas como proceda.
7. En la barra de menú del cuadro de diálogo Report (informe), haga clic en **File** → **Save As...** (archivo → guardar como...) para abrir el cuadro de diálogo Save Report (guardar informe).
8. En el cuadro de diálogo Save Report (guardar informe), especifique el nombre y la ubicación para el archivo de informe que se va a generar y haga clic en **Save** (guardar).

7.4.9.1 Interpretación manual de los resultados

1. Abra el archivo del informe generado para el grupo de pocillos del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 (consulte el capítulo 7.4.9 Exportación de resultados de PCR sin transferencia a un LIMS).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

2. Consulte la tabla Quantification Data (datos de cuantificación) en el informe (consulte la figura 14). La tabla incluye 3 filas para cada **Sample** (muestra) – una para el **Target** (objetivo) *UP* y *MH* y una para el *Internal Control* (control interno) del **Target** (objetivo).

Quantification Data

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Biological Set Name	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Well Note
A03	Cy5	MH	Unkn	sample3 | 001002	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
B03	Cy5	MH	Unkn	sample4 | 001003	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
E02	Cy5	MH	NTC	UP & MH NTC | 648719360012600039	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	
F02	Cy5	MH	Pos Ctrl	UP & MH PC | 214221760012600028	FlexStar UP & MH PCR 1.5	32.79	32.79	0.000	
G02	Cy5	MH	Unkn	sample1 | 001000	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
H02	Cy5	MH	Unkn	sample2 | 001001	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
A03	FAM	UP	Unkn	sample3 | 001002	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
B03	FAM	UP	Unkn	sample4 | 001003	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
E02	FAM	UP	NTC	UP & MH NTC | 648719360012600039	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	
F02	FAM	UP	Pos Ctrl	UP & MH PC | 214221760012600028	FlexStar UP & MH PCR 1.5	32.33	32.33	0.000	
G02	FAM	UP	Unkn	sample1 | 001000	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
H02	FAM	UP	Unkn	sample2 | 001001	FlexStar UP & MH PCR 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
A03	VIC	Internal Control	Unkn	sample3 | 001002	FlexStar UP & MH PCR 1.5	28.93	28.93	0.000	qualitative
B03	VIC	Internal Control	Unkn	sample4 | 001003	FlexStar UP & MH PCR 1.5	29.19	29.19	0.000	qualitative
E02	VIC	Internal Control	NTC	UP & MH PC | 648719360012600039	FlexStar UP & MH PCR 1.5	28.20	28.20	0.000	
G02	VIC	Internal Control	Unkn	sample1 | 001000	FlexStar UP & MH PCR 1.5	28.74	28.74	0.000	qualitative
H02	VIC	Internal Control	Unkn	sample2 | 001001	FlexStar UP & MH PCR 1.5	28.70	28.70	0.000	qualitative

Figura 14: Ejemplo de informe: Quantification Data (datos de cuantificación)

Los resultados cualitativos se marcan con el término *qualitative* (cualitativo) en la columna **Well Note** (nota de pocillo) de la tabla Quantification Data (datos de cuantificación).

3. Identifique cada fila con el **Target** (objetivo) *UP* o *MH* y el término *qualitative* (cualitativo) en la columna **Well Note** (nota de pocillo).
4. En estas filas, consulte la columna **C_q** para el resultado de la **Sample** (muestra) respectiva.
5. Consulte las tablas 10 y 11 para ver la interpretación de los resultados.

Tabla 10: Interpretación de resultados (ciclo de umbral)

Ciclo de umbral (C_q) del UP o MH objetivo	Interpretación del resultado
1-45	Se ha detectado ADN específico de UP o MH.
N/A	No se ha detectado ADN específico de UP o MH. La muestra no contiene cantidades detectables de ADN específico de UP o MH.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Tabla 11: Interpretación de resultados (canal de detección)

Canal de detección			Interpretación del resultado
FAM™ (UP)	Cy5 (MH)	JOE™ (IC)	
+	+	+/-*	Se ha detectado ADN específico de UP y MH.
+	-	+/-*	Se ha detectado ADN específico de UP.
-	+	+/-*	Se ha detectado ADN específico de MH.
-	-	+	No se ha detectado ADN específico de UP ni de MH. La muestra no contiene cantidades detectables de ADN específico de UP o MH.
-	-	-	Inhibición de PCR o fallo de reactivo. Repita el test con la muestra original o recoja y pruebe con una nueva muestra.

* No se requiere la detección del IC en el canal de detección de JOE™ para obtener resultados positivos en el canal de detección de FAM™ y/o en el canal de detección de Cy5. Una elevada carga de ADN de UP y/o de MH en la muestra puede dar lugar a señales reducidas o ausentes del IC.

7.4.10 Exportación de resultados de PCR a un LIMS

Para que los resultados de la serie PCR estén disponibles para un LIMS, deben exportarse en forma de archivo de resultados de LIMS (.CSV).

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.
2. Asegúrese de que se hayan completado todos los pasos del proceso de análisis (consulte los capítulos del 7.4.7.2 Corrección de la línea de base al capítulo 7.4.8.1 Exclusión de pocillos que contengan datos no válidos) para el grupo de pocillos del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.
3. En la barra de menú de la ventana Data Analysis (análisis de datos), haga clic en **Export** → **Export All Data Sheets** (exportar → exportar todas las hojas de datos) para abrir el cuadro de diálogo Browse For Folder (buscar carpeta).

IF-2020-100350468-APN-INPM#ANMAT

4. En el cuadro de diálogo Browse for Folder (buscar carpeta), especifique la ubicación para los archivos de resultados de LIMS que se van a generar y haga clic en **OK** (aceptar).

NOTA

La integración de LIMS debe implementarse de conformidad con las especificaciones de altona Diagnostics. Para obtener más información sobre la integración de LIMS, consulte el capítulo 17. Protocolo de ensayo para el AltoStar® Connect Software e información para la integración de LIMS y/o contacte con el soporte técnico de altona Diagnostics (consulte el capítulo 12. Soporte técnico).

NOTA

Si se guardan los resultados de más de un ensayo (grupo de pocillos) de una serie PCR en la misma carpeta, se sustituyen los archivos de resultados de LIMS del primer ensayo (grupo de pocillos) por los archivos de resultados de LIMS del segundo ensayo (grupo de pocillos). En este caso, los archivos de resultados de LIMS del primer ensayo (grupo de pocillos) pueden volver a exportarse.

7.4.11 Análisis de datos de PCR e interpretación de resultados automatizada utilizando FastFinder

Opcionalmente, el análisis de datos de PCR y la interpretación automatizada de los resultados pueden realizarse utilizando FastFinder Standalone y el plugin de ensayo FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. La versión válida del plugin de ensayo se enumera en el capítulo 3.2 Plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

Para obtener información más detallada sobre FastFinder Standalone, consulte las instrucciones de uso.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

NOTA

El plugin de ensayo FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 está pensado para servir de apoyo en la interpretación de resultados generados con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en el CFX96™ DW Dx. Un operador humano debe verificar todos los resultados generados con el plugin de ensayo para comprobar su validez y exactitud.

1. Inicie la aplicación FastFinder Standalone en el AltoStar® Automated Analysis PC.
2. Introduzca sus datos de usuario y contraseña para iniciar sesión. Se muestra la pantalla de inicio. Es posible acceder a todos los análisis abiertos y autorizados.
3. Haga clic en **Create new analysis** (crear nuevo análisis).
4. Busque el archivo de datos que desea analizar y selecciónelo haciendo clic en **Open** (abrir). Solo se admiten archivos .PCRD. El archivo se carga y se analiza. Una vez finalizado el análisis, aparece como **Ready for review** (listo para revisión).

NOTA

Se recomienda encarecidamente analizar solo un archivo de datos PCR (.PCRD) a la vez en lugar de analizar varias series PCR por lotes.

5. Haga clic en la serie PCR para iniciar el proceso de revisión.
6. Compruebe los controles y resuelva cualquier mensaje de error basado en la advertencia para muestras individuales.

NOTA

Asegúrese de confirmar las muestras irresolubles como no concluyentes y de volver a extraer y analizar las muestras.

7. Autorizar y reiniciar el análisis.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Después de hacer clic en **Authorize** (autorizar), el análisis se descarga automáticamente como .CSV file. Se pueden descargar los PDF de los análisis autorizados. Haga clic en el botón **Actions** (acciones) de la esquina superior derecha y seleccione **Generate PDF Export** (generar exportación en PDF). Para abrir el archivo, vaya a **Downloads** (descargas) por medio del mismo menú.

8. Uso del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 con otros instrumentos PCR en tiempo real que no sean el CFX96™ Deep Well Dx System

Además del CFX96™ DW Dx, el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se ha validado con otros instrumentos de PCR en tiempo real (consulte el capítulo 5.3.2 Otros flujos de trabajo). Los capítulos 8.1 Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados y 8.2 Procedimiento describen cómo usar el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 con estos instrumentos.

8.1 Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados

Se requieren los siguientes instrumentos, software y materiales:

- FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5 (para obtener más información, consulte la tabla 3)
- Materiales y dispositivos generales (consulte el capítulo 7.3 Material y dispositivos generales)
- CFX96™ Deep Well Dx System y CFX Manager™ Dx software versión 3.1 (Bio-Rad)
    - Placas PCR de 96 pocillos y lámina sellante (para obtener más información, consulte la tabla 3)
- CFX96™ Dx System y CFX Manager™ Dx software versión 3.1 (Bio-Rad)
    - Placas PCR de 96 pocillos y lámina sellante (para obtener más información, consulte la tabla 3)

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform y Rotor-Gene® Q Software versión 2.3.1 (QIAGEN)
    - Tiras de tubos y tapas de 0,1 ml [STRIP Tubes 0,1 ml for Rotor-Gene® cyclers (LTF Labortechnik) o equivalente]
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System y QuantStudio™ 5 Dx Software v1.0.2 (Applied Biosystems)
    - Placas PCR de 96 pocillos y lámina sellante [MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate and MicroAmp™ Optical Adhesive Film (Applied Biosystems) o equivalente]

NOTA

No se recomienda usar otros materiales o dispositivos distintos de los especificados en estas instrucciones de uso.

8.2 Procedimiento

8.2.1 Preparación de las muestras

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se validó utilizando el AltoStar® AM16 en combinación con el kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 debe usarse con un IC heterólogo (AltoStar® Internal Control 1.5), que sirve para controlar el procedimiento de preparación de las muestras (extracción de ácido nucleico) y la posterior PCR.

El volumen del IC que se añade a la mezcla de la muestra y el amortiguador de lisis depende del volumen de la elución. Representa el 50 % del volumen de la elución.

PRECAUCIÓN

El almacenamiento de eluidos en condiciones incorrectas puede provocar la degradación de las secuencias objetivo de UP y/o MH y podría afectar al rendimiento del producto.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

8.2.2 Configuración de master mix

Todos los componentes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5, el FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5 y las muestras deben descongelarse del todo, mezclarse (pipeteando o aplicando un vortex suave) y centrifugarse brevemente antes de su uso. Configure la master mix conforme al siguiente esquema de pipeteo:

Tabla 12: Esquema de pipeteo (configuración de master mix)

Número de reacciones (rxns)	1	12
Detection Mix	5 µl	60 µl
Amplification Mix	15 µl	180 µl
Volumen de master mix	**20 µl**	**240 µl**

PRECAUCIÓN



No use volúmenes diferentes del componente Detection Mix y Amplification Mix para la configuración de master mix distintos de los especificados en estas instrucciones de uso, ya que esto podría afectar al rendimiento del producto.

PRECAUCIÓN



La ausencia de centrifugación de los componentes del producto tras la descongelación podría provocar la contaminación con restos de reactivos en las tapas y podría afectar al rendimiento del producto.

8.2.3 Configuración de reacción

1. Pipetee 20 µl de la master mix en cada pocillo necesario de una placa PCR óptica de 96 pocillos o un tubo de reacción óptica adecuado.
2. Añada 10 µl de la muestra (eluido de la extracción de ácido nucleico) o 10 µl de los controles (PC o NTC).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Tabla 13: Esquema de pipeteo (configuración de reacción)

Configuración de reacción	
Master mix	20 µl
Muestra o control	10 µl
Volumen total	**30 µl**

3. Asegúrese de que al menos se utilicen un PC y un NTC por serie.
4. Mezcle a fondo las muestras y los controles con la master mix pipeteando hacia arriba y hacia abajo.
5. Cierre la placa PCR de 96 pocillos con una lámina sellante para placas PCR y los tubos de reacción con las tapas apropiadas (consulte el capítulo 8.1 Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados).
6. Centrifugue la placa PCR de 96 pocillos en una centrifugadora con un rotor de placa de microtítulos y los tubos de reacción en una centrífuga apropiada durante 30 segundos a aproximadamente 1000 x g (~3000 rpm).

El NTC ya contiene la plantilla del IC en la concentración correcta.

Tras completarse la configuración de PCR, la mezcla de PCR es estable a temperatura ambiente (máx. +30 °C) durante 30 minutos.

PRECAUCIÓN



No supere el tiempo de almacenamiento de la mezcla de PCR, ya que podría afectar al buen funcionamiento del producto.

PRECAUCIÓN



No mezcle muestras ni ID de muestras durante la configuración de PCR o la transferencia al instrumento PCR. Esto podría provocar resultados con falsos positivos o falsos negativos debido a una asignación de muestras incorrecta.

8.2.4 Serie PCR

8.2.4.1 Programación del instrumento de PCR en tiempo real

Para ver información básica en relación con la configuración y la programación de los diferentes instrumentos de PCR en tiempo real, consulte las instrucciones de uso del instrumento en cuestión.

Para ver instrucciones de programación detalladas sobre el uso del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en instrumentos específicos de PCR en tiempo real, póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics (ver capítulo 12. Soporte técnico).

8.2.4.2 Configuración de la serie

Defina la siguiente configuración básica:

Tabla 14: Configuración de la serie

Configuración	
Volumen de reacción	30 µl
Índice de aumento	Predeterminado
Referencia pasiva*	Ninguno

* Si procede

Defina los siguientes detectores de fluorescencia (colorantes):

Tabla 15: Detectores de fluorescencia

Objetivo	Nombre del detector	Marcador	Amortigua-dor de la fluorescencia
UP	UP	FAM™	(Ninguno)
MH	MH	Cy5	(Ninguno)
IC	Internal Control	JOE™	(Ninguno)

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Defina el siguiente perfil de temperatura y la detección de fluorescencia:

Tabla 16: Perfil de temperatura y detección de fluorescencia

	Fase	Repeti-ciones de ciclo	Obtención	Temperatura [°C]	Tiempo [min:s]
Transcripción inversa	Retención	1	-	52	05:00
Desnaturalización	Retención	1	-	95	00:05
Amplificación	Ciclo	45	-	95	00:05
			Sí	58	00:25

PRECAUCIÓN

No use otras condiciones de ciclo distintas de las especificadas en estas instrucciones de uso, ya que esto podría afectar al rendimiento del producto.

8.2.5 Análisis de datos

Para ver información básica en relación con el análisis de datos en instrumentos específicos de PCR en tiempo real, consulte las instrucciones de uso del instrumento en cuestión.

Para ver instrucciones detalladas sobre el análisis de los datos generados con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en diferentes instrumentos específicos de PCR en tiempo real, póngase en contacto el soporte técnico de altona Diagnostics (ver capítulo 12. Soporte técnico).

Los criterios para la validez de las series PCR de diagnóstico y la interpretación de los resultados, independientemente del instrumento PCR en tiempo real, se describen en los capítulos 7.4.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico, capítulo 7.4.8.3 Validez de los resultados para una muestra, capítulo 7.4.9.1 Interpretación manual de los resultados y las tablas 10 y 11.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN



No use otra configuración de control para el análisis de datos que no sea la especificada en estas instrucciones de uso, ya que esto podría provocar unos resultados de examen IVD incorrectos.

PRECAUCIÓN



Como con cualquier test diagnóstico, los resultados se interpretarán teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

9. Datos de rendimiento

El rendimiento del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se evaluó usando materiales disponibles comercialmente de *Ureaplasma parvum* (UP) y *Mycoplasma hominis* (MH).

Los datos de rendimiento se obtuvieron con el FlexStar® Workflow (flujo de trabajo) del kit AltoStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Se demostró un rendimiento equivalente en cuanto a la especificidad, sensibilidad y precisión de otros instrumentos de PCR en tiempo real enumerados en el capítulo 5.3.2 Otros flujos de trabajo.

9.1 Orina

9.1.1 Sensibilidad analítica

Para la determinación del límite de detección (LoD), se ha generado una serie de dilución de material disponible comercialmente de UP en orina de 3,00E+03 a 1,00E+01 copias/ml. Para MH, se analizó una serie de dilución de 3,00E+03 a 1,00E+00 copias/ml.

Cada dilución se probó en 8 réplicas en 3 series diferentes (total n = 24 por dilución), usando combinaciones de:

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

- 3 lotes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5
- 1 lote del FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 3 lotes del kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lotes de AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 instrumentos AltoStar® AM16
- 3 instrumentos CFX96™ DW Dx

Por cada patógeno, se combinaron los datos de todas las series y se realizó un análisis de probit para determinar el valor del 95 % del límite de detección.

Tabla 17: Resultados de PCR utilizados para calcular la sensibilidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para UP en orina

Concentración [copias/ml]	N [total]	N [positivo]	Índice de éxito [%]
3,00E+03	24	24	100
1,50E+03	24	24	100
7,00E+02	24	24	100
5,00E+02	24	24	100
2,50E+02	24	22	92
1,00E+02	24	15	63
5,00E+01	24	7	29
1,00E+01	24	1	4

El LoD del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para la detección de UP en orina es de 315 copias/ml (intervalo de confianza del 95 %: 218-568 copias/ml).

Tabla 18: Resultados de PCR utilizados para calcular la sensibilidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para MH en orina

Concentración [copias/ml]	N [total]	N [positivo]	Índice de éxito [%]
3,00E+03	24	24	100
1,50E+03	24	24	100
7,00E+02	24	23	96
5,00E+02	24	22	92
2,50E+02	24	10	42
1,00E+02	24	6	25
5,00E+01	24	1	4
1,00E+01	24	0	0
1,00E+00	24	0	0

El LoD del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para la detección de MH en orina es de 755 copias/ml (intervalo de confianza del 95 %: 533-1213 copias/ml).

9.1.2 Especificidad analítica

La especificidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se garantiza mediante la selección exhaustiva de los oligonucleótidos (cebadores y sondas). Los oligonucleótidos se comprobaron mediante un análisis de comparación con secuencias disponibles públicamente para garantizar que se detectarán todos los subtipos de UP y MH relevantes.

Para la verificación de la especificidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5, se realizaron los siguientes experimentos (consulte los capítulos desde el 9.1.2.1 Muestras negativas hasta el 9.1.2.3 Reactividad cruzada).

9.1.2.1 Muestras negativas

Se analizaron 31 muestras de orina negativas en UP y MH de donantes individuales con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Todas las muestras (31 de 31) dieron negativo para el ADN específico de UP y MH y positivo para el IC. La especificidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para muestras de orina es de ≥95 %.

9.1.2.2 Sustancias interferentes

Para evaluar la influencia de sustancias endógenas y exógenas potencialmente interferentes en el rendimiento del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5, se añadieron las sustancias seleccionadas a las muestras de orina. Estas muestras de orina contenían UP y MH en una concentración de 3 x LoD y sin UP y MH, respectivamente.

Los resultados obtenidos para las muestras que contenían sustancias potencialmente interferentes se compararon con los resultados generados para muestras de orina que no se enriquecieron con interferentes. Cada muestra se procesó en 3 réplicas.

No se observó interferencia para las muestras que contenían niveles elevados de:

- Sustancias endógenas
  - Leucocitos humanos
  - Fluido seminal humano
  - Sangre entera humana
- Sustancias exógenas
  - Aciclovir (antiviral)
  - Metronidazol (antibacteriano)
  - Miconazol y terconazol (antifúngicos)

PRECAUCIÓN



La presencia de inhibidores de PCR podría provocar falsos negativos o resultados no válidos.

9.1.2.3 Reactividad cruzada

Se evaluó la especificidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 con respecto a la reactividad cruzada con otros patógenos distintos de UP y MH mediante análisis:

- Patógenos relacionados con UP o MH
- Patógenos que provocan síntomas similares a una infección por UP o MH

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 no mostró ninguna reacción cruzada con ninguno de los siguientes patógenos:

- *Candida albicans*
- *Chlamydia trachomatis*
- Citomegalovirus (CMV)
- *Escherichia coli*
- *Gardnerella vaginalis*
- Virus del herpes simple 1 (HSV-1)
- Virus del herpes simple 2 (HSV-2)
- Virus del papiloma humano (VPH)
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Mycoplasma genitalium*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Proteus mirabilis*
- *Treponema pallidum*
- *Trichomonas tenax*
- *Trichomonas vaginalis*
- *Ureaplasma urealyticum*

Adicionalmente, se analizaron UP y MH. El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 no generó falsas señales positivas en el canal de detección específico de MH (Cy5) al analizar UP ni en el canal de detección específico de UP (FAM™) al analizar MH.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN



Si la muestra contiene otros patógenos distintos de UP y/o MH, puede darse competencia con la amplificación objetivo o reactividades cruzadas, lo que provocaría unos resultados de examen IVD incorrectos.

9.1.3 Precisión

Se evaluó la precisión del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 usando un panel compuesto por:

- 1 muestra de orina con carga viral alta de UP [50 x LoD (1,58E+04 copias/ml)]
- 1 muestra de orina con carga viral alta de MH [50 x LoD (3,78E+04 copias/ml)]
- 1 muestra de orina con carga viral baja de UP [3 x LoD (9,45E+02 copias/ml)]
- 1 muestra de orina con carga viral baja de MH [3 x LoD (2,27E+03 copias/ml)]
- 1 muestra de orina negativa para UP y MH

Los datos se determinaron en función de:

- Valores de ciclo de umbral (C_q*) en la muestra positiva para UP y MH con carga viral alta
- Valores de ciclo de umbral (C_q) del IC en la muestra negativa para UP y MH

* Tenga en cuenta que el término elegido C_q es equivalente a la designación de C_t, la cual podría ser usada por otros cicladores distintos del CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad).

Los datos de repetibilidad se generaron siguiendo las recomendaciones de la guía CLSI EP05-A3 («Evaluation of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition») [9]. Un operador analizó cada miembro del panel por duplicado en 2 series al día durante 20 días usando:

- 1 lote del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5
- 1 lote del FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 1 lote del kit AltoStar® Purification Kit 1.5

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

- 1 lote de AltoStar® Internal Control 1.5
- 1 instrumento AltoStar® AM16
- 1 instrumento CFX96™ DW Dx

En la tabla 19 se muestran los cálculos de repetibilidad y de precisión intralaboratorio tanto en forma de desviaciones estándar (DE) como de coeficientes de variación (CV %) obtenidos para las muestras de carga viral alta de UP y MH y el IC en las muestras negativas de UP y MH. Los datos de precisión se obtuvieron por medio del análisis de datos manual con CFX Manager™ Dx software y la interpretación de resultados automatizada con FastFinder Standalone y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

Tabla 19: Repetibilidad y precisión intralaboratorio del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5

	Repetibilidad		Precisión intralaboratorio	
CFX Manager™ Dx software				
Muestra	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	CV %	DE (valores C_q)	CV %
Carga viral alta de UP	31,58	0,27	0,84	0,31	0,97
Carga alta de MH	32,51	0,11	0,34	0,29	0,89
Negativo para UP y MH	27,81	0,04	0,15	0,12	0,43

		Repetibilidad		Precisión intralaboratorio	
Plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5					
Muestra	C_q promedio (valores C_q)	DE (valores C_q)	CV %	DE (valores C_q)	CV %
Carga viral alta de UP	29,87	0,26	0,87	0,41	1,37
Carga viral alta de MH	30,65	0,12	0,38	0,29	0,95
Negativo para UP y MH	23,33	0,12	0,52	0,31	1,34

Todas las muestras analizadas a 3 x LoD (muestras con carga viral baja) resultaron positivas y todas las muestras negativas resultaron negativas con el CFX Manager™ Dx software y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

Para la reproducibilidad, 3 operadores analizaron cada miembro del panel en 6 repeticiones de 3 series:

- 3 lotes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5
- 1 lote del FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 3 lotes del kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lotes de AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 instrumentos AltoStar® AM16
- 3 instrumentos CFX96™ DW Dx

En la tabla 20 se muestran los cálculos de reproducibilidad tanto en forma de desviaciones estándar (DE) como de coeficientes de variación (CV %) obtenidos para las muestras de carga viral alta de UP y MH y el IC en las muestras negativas de UP y MH. Los datos de precisión se obtuvieron por medio del análisis de datos manual con CFX Manager™ Dx software y la interpretación de resultados automatizada con FastFinder Standalone y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Tabla 20: Reproducibilidad del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5

Reproducibilidad			
CFX Manager™ Dx software			
Muestra	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	CV %
Carga viral alta de UP	32,08	0,26	0,81
Carga viral alta de MH	33,31	0,24	0,73
Negativo para UP y MH	28,34	0,12	0,41
Plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5			
Muestra	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	CV %
Carga viral alta de UP	30,27	0,29	0,95
Carga viral alta de MH	31,29	0,18	0,57
Negativo para UP y MH	24,12	0,22	0,91

Todas las muestras analizadas a 3 x LoD (muestras con carga viral baja) resultaron positivas y todas las muestras negativas resultaron negativas con el CFX Manager™ Dx software y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

9.1.4 Índice de fallo total

Se evaluó la robustez del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 analizando 32 muestras de orina negativas de UP y 31 de MH de donantes individuales enriquecidas con UP y MH hasta una concentración final de 3 x LoD (9,45E+02 copias/ml y 2,27E+03 copias/ml, respectivamente). Todas las muestras (32 de 32 para UP y 31 de 31 para MH) dieron positivo en los canales de detección de fluorescencia específicos de UP y MH (FAM™ y Cy5, respectivamente).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

9.1.5 Arrastre

La contaminación por arrastre es un riesgo que depende del flujo de trabajo y no del ensayo PCR que se utilice. Para el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) se utilizó el kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5 como modelo ilustrativo. Se evaluó la posible contaminación cruzada por arrastre de muestras de carga viral alta analizando muestras alternativas de parvovirus B19 de carga viral alta (1,00E+07 UI/ml) y muestras negativas (n = 44 cada una por serie, 5 series) con el kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. No se observó arrastre; es decir, todas las muestras negativas para el parvovirus B19 dieron negativo.

9.1.6 Rendimiento clínico

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se evaluó en un estudio comparativo con el kit GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit con marcado CE (GeneProof). Retrospectivamente, se analizaron en paralelo 152 muestras de orina del diagnóstico rutinario de UP y MH:

Se usó el kit GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof) en combinación con el kit GeneProof™ PathogenFree DNA Isolation Kit (GeneProof).

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se utilizó junto con el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 y el AltoStar® Internal Control 1.5 en el AltoStar® AM16 y el CFX96™ DW Dx.

Para el análisis cualitativo se excluyeron todas las muestras con un resultado no válido para uno o ambos ensayos.

Los resultados para las 131 muestras restantes para UP figuran en la tabla 21.

Tabla 21: Resultados de la evaluación de la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico para UP en muestras de orina

		GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof)	
		POSITIVO	NEGATIVO
FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5	POSITIVO	44	2
	NEGATIVO	2	83

La sensibilidad y la especificidad del diagnóstico del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en comparación con el kit GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof) fueron del 96 % y del 98 %, respectivamente.

Los resultados para las 134 muestras restantes para MH figuran en la tabla 22.

Tabla 22: Resultados de la evaluación de la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico para MH en muestras de orina

		GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof)	
		POSITIVO	NEGATIVO
FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5	POSITIVO	35	1
	NEGATIVO	0	98

La sensibilidad y la especificidad del diagnóstico del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en comparación con el kit GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof) fueron del 100 % y del 99 %, respectivamente.

9.2 Hisopos genitales

9.2.1 Sensibilidad analítica

Para la determinación del límite de detección (LoD), se ha generado una serie de dilución de material disponible comercialmente de UP en medio de transporte universal (UTM®, Copan) de entre 3,00E+03 y 1,00E+00 copias/ml. Para MH, se analizó una serie de dilución de 3,00E+03 a 1,00E+00 copias/ml.

Cada dilución se probó en 8 réplicas en 3 series diferentes (total n = 24 por dilución), usando combinaciones de:

- 3 lotes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5
- 1 lote del FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 3 lotes del kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lotes de AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 instrumentos AltoStar® AM16
- 3 instrumentos CFX96™ DW Dx

Por cada patógeno, se combinaron los datos de todas las series y se realizó un análisis de probit para determinar el valor del 95 % del límite de detección.

Tabla 23: Resultados de PCR utilizados para calcular la sensibilidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para UP en hisopos genitales

Concentración [copias/ml]	N [total]	N [positivo]	Índice de éxito [%]
3,00E+03	24	24	100
1,50E+03	24	24	100
7,00E+02	24	24	100
5,00E+02	24	24	100
2,50E+02	24	24	100
1,00E+02	24	22	92
5,00E+01	24	17	71
1,00E+01	24	4	17
1,00E+00	24	0	0

El LoD del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para la detección de UP en UTM® es de 128 copias/ml (intervalo de confianza del 95 %: 85-247 copias/ml).

Tabla 24: Resultados de PCR utilizados para calcular la sensibilidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para MH en hisopos genitales

Concentración [copias/ml]	N [total]	N [positivo]	Índice de éxito [%]
3,00E+03	24	24	100
1,50E+03	24	24	100
7,00E+02	24	24	100
5,00E+02	24	24	100
2,50E+02	24	24	100
1,00E+02	24	21	88
5,00E+01	24	18	75
1,00E+01	24	8	33
1,00E+00	24	3	0

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

El LoD del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para la detección de MH en UTM® es de 143 copias/ml (intervalo de confianza del 95 %: 89-294 copias/ml).

9.2.2 Especificidad analítica

La especificidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se garantiza mediante la selección exhaustiva de los oligonucleótidos (cebadores y sondas). Los oligonucleótidos se comprobaron mediante un análisis de comparación con secuencias disponibles públicamente para garantizar que se detectarán todos los subtipos de UP y MH relevantes.

Para la verificación de la especificidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5, se realizaron los siguientes experimentos (consulte los capítulos desde el 9.2.2.1 Muestras negativas hasta el 9.2.2.3 Reactividad cruzada).

9.2.2.1 Muestras negativas

Se analizaron 34 muestras de hisopos genitales (endo-)cervicales/vaginales y 16 uretrales negativas para UP y MH en UTM® de donantes individuales con el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5. Todas las muestras (50 de 50) dieron negativo para el ADN específico de UP y MH y positivo para el IC. La especificidad analítica del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 para muestras de hisopos genitales en UTM® es de ≥95 %.

9.2.2.2 Sustancias interferentes

Para evaluar la influencia de sustancias endógenas y exógenas potencialmente interferentes en el rendimiento del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5, se añadieron las sustancias seleccionadas a las muestras de hisopos genitales simuladas. Estas muestras de hisopos genitales contenían UP y MH en una concentración de 3 x LoD y sin UP ni MH, respectivamente.

Los resultados obtenidos para las muestras que contenían sustancias potencialmente interferentes se compararon con los resultados generados con muestras que no se enriquecieron con interferentes. Cada muestra se procesó en 3 réplicas.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

No se observó interferencia para las muestras que contenían niveles elevados de:

- Sustancias endógenas
  - Leucocitos humanos
  - Fluido seminal humano
  - Heces humanas
  - Orina humana
  - Sangre entera humana
  - Mucina
- Sustancias exógenas
  - Aciclovir (antiviral)
  - Beta-estradiol y progesterona (hormonas)
  - Gel K-Y® Jelly (lubricante íntimo)
  - Metronidazol (antibacteriano)
  - Miconazol y terconazol (antifúngicos)
  - Vagisil® (loción antipicor)
  - VCF® (gel espermicida anticonceptivo vaginal)
  - Gel Yeast-Gard®

PRECAUCIÓN



La presencia de inhibidores de PCR podría provocar falsos negativos o resultados no válidos.

9.2.2.3 Reactividad cruzada

Como es probable que se encuentren los mismos patógenos en las muestras de orina e hisopos genitales, no se analizaron patógenos adicionales para las muestras de hisopos genitales. Para la evaluación de la reactividad cruzada, consulte el capítulo 9.1.2.3 Reactividad cruzada.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN



Si la muestra contiene otros patógenos distintos de UP y/o MH, puede darse competencia con la amplificación objetivo o reactividades cruzadas, lo que provocaría unos resultados de examen IVD incorrectos.

9.2.3 Precisión

Se evaluó la precisión del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 usando un panel compuesto por:

- 1 muestra de carga viral alta de UP [50 x LoD (6,40E+03 copias/ml)] en UTM®
- 1 muestra de carga viral alta de MH [50 x LoD (7,15E+03 copias/ml)] en UTM®
- 1 muestra de carga viral baja de UP [3 x LoD (3,84E+02 copias/ml)] en UTM®
- 1 muestra de carga viral baja de MH [3 x LoD (4,29E+02 copias/ml)] en UTM®
- 1 muestra negativa de UP y MH (UTM®)

Los datos se determinaron en función de:

- Valores de ciclo de umbral (C_q*) en la muestra positiva para UP y MH con carga viral alta
- Valores de ciclo de umbral (C_q) del IC en la muestra negativa para UP y MH

* Tenga en cuenta que el término elegido C_q es equivalente a la designación de C_t, la cual podría ser usada por otros cicladores distintos del CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad).

Los datos de repetibilidad se generaron siguiendo las recomendaciones de la guía CLSI EP05-A3 («Evaluation of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition») [9]. Un operador analizó cada miembro del panel por duplicado en 2 series al día durante 20 días usando:

- 1 lote del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5
- 1 lote del FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 1 lote del kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 1 lote de AltoStar® Internal Control 1.5

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

- 1 instrumento AltoStar® AM16
- 1 instrumento CFX96™ DW Dx

En la tabla 25 se muestran los cálculos de repetibilidad y de precisión intralaboratorio tanto en forma de desviaciones estándar (DE) como de coeficientes de variación (CV %) obtenidos para las muestras de carga viral alta de UP y MH y el IC en las muestras negativas de UP y MH. Los datos de precisión se obtuvieron por medio del análisis de datos manual con CFX Manager™ Dx software y la interpretación de resultados automatizada con FastFinder Standalone y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

Tabla 25: Repetibilidad y precisión intralaboratorio del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5

		Repetibilidad		Precisión intralaboratorio	
CFX Manager™ Dx software					
Muestra	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	CV %	DE (valores C_q)	CV %
Carga viral alta de UP	32,83	0,39	1,18	0,42	1,27
Carga viral alta de MH	31,83	0,11	0,36	0,16	0,51
Negativo para UP y MH	28,20	0,09	0,32	0,15	0,53

		Repetibilidad		Precisión intralaboratorio	
Plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5					
Muestra	C_q promedio (valores C_q)	DE (valores C_q)	CV %	DE (valores C_q)	CV %
Carga viral alta de UP	31,31	0,39	1,24	0,45	1,45
Carga viral alta de MH	30,34	0,11	0,35	0,20	0,65
Negativo para UP y MH	24,23	0,12	0,49	0,21	0,86

Todas las muestras analizadas a 3 x LoD (muestras con carga viral baja) resultaron positivas y todas las muestras negativas resultaron negativas con el CFX Manager™ Dx software y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

Para la reproducibilidad, 3 operadores analizaron cada miembro del panel en 6 repeticiones de 3 series:

- 3 lotes del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5
- 1 lote del FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 3 lotes del kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lotes de AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 instrumentos AltoStar® AM16
- 3 instrumentos CFX96™ DW Dx

En la tabla 26 se muestran los cálculos de reproducibilidad tanto en forma de desviaciones estándar (DE) como de coeficientes de variación (CV %) obtenidos para las muestras de carga viral alta de UP y MH y el IC en las muestras negativas de UP y MH. Los datos de precisión se obtuvieron por medio del análisis de datos manual con CFX Manager™ Dx software y la interpretación de resultados automatizada con FastFinder Standalone y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Tabla 26: Reproducibilidad del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5

Reproducibilidad			
CFX Manager™ Dx software			
Muestra	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	CV %
Carga viral alta de UP	32,53	0,36	1,12
Carga viral alta de MH	31,62	0,23	0,72
Negativo para UP y MH	28,58	0,16	0,56
Plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5			
Muestra	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	CV %
Carga viral alta de UP	30,97	0,46	1,50
Carga viral alta de MH	30,38	0,10	0,34
Negativo para UP y MH	24,33	0,20	0,84

Todas las muestras analizadas a 3 x LoD (muestras con carga viral baja) resultaron positivas y todas las muestras negativas resultaron negativas con el CFX Manager™ Dx software y el plugin de ensayo del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5.

9.2.4 Índice de fallo total

Se evaluó la robustez del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 analizando 34 muestras de hisopos genitales (endo-)cervicales/vaginales y 16 uretrales negativas en UP y MH en UTM® de donantes individuales enriquecidas con UP y MH hasta una concentración final de 3 x LoD (3,84E+02 copias/ml y 4,29E+02 copias/ml, respectivamente). Todas las muestras (50 de 50) dieron positivo en los respectivos canales de detección de fluorescencia específicos de UP y MH (FAM™ y Cy5).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

9.2.5 Arrastre

Consulte el capítulo 9.1.5 Arrastre.

9.2.6 Rendimiento clínico

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se evaluó en un estudio comparativo con el kit GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit con marcado CE (GeneProof). Retrospectivamente, se analizaron en paralelo 154 muestras de hisopos genitales/ del diagnóstico rutinario de UP y MH:

Se usó el kit GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof) en combinación con el kit GeneProof™ PathogenFree DNA Isolation Kit (GeneProof).

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se utilizó junto con el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 y el AltoStar® Internal Control 1.5 en el AltoStar® AM16 y el CFX96™ DW Dx.

Para el análisis cualitativo se excluyeron todas las muestras con un resultado no válido para uno o ambos ensayos.

Los resultados para las 149 muestras restantes para UP figuran en la tabla 27.

Tabla 27: Resultados de la evaluación de la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico para UP en muestras de hisopos genitales

		GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof)	
		POSITIVO	NEGATIVO
FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5	POSITIVO	118	0
	NEGATIVO	1	30

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

La sensibilidad y la especificidad del diagnóstico del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en comparación con el kit GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof) fueron del 99 % y del 100 %, respectivamente.

Los resultados para las 143 muestras restantes para MH figuran en la tabla 28.

Tabla 28: Resultados de la evaluación de la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico para MH en muestras de hisopos genitales

		GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof)	
		POSITIVO	NEGATIVO
FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5	POSITIVO	89	0
	NEGATIVO	5	49

La sensibilidad y la especificidad del diagnóstico del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en comparación con el kit GeneProof™ MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (GeneProof) fueron del 95 % y del 100 %, respectivamente.

10. Eliminación

Elimine los desechos peligrosos y biológicos conforme a las normativas locales y nacionales. No debe permitirse que los componentes sobrantes de producto ni los desechos lleguen al alcantarillado, a cursos de agua o al suelo exterior.

PRECAUCIÓN



Trate siempre las muestras como si fuera material infeccioso y (bio)peligroso conforme a los procedimientos de seguridad y de laboratorio. Si se derrama material de las muestras, utilice rápidamente un desinfectante adecuado. Manipule los materiales contaminados como si fueran biopeligrosos.

PRECAUCIÓN



Deberá cumplir las normativas locales y nacionales a la hora de eliminar los residuos peligrosos y biológicos para evitar la contaminación medioambiental.

NOTA



La placa PCR debe eliminarse sellada, ya que no se puede retirar la lámina sellante para placas PCR.

11. Control de calidad

De acuerdo con el sistema de control de calidad con certificación EN ISO 13485 de altona Diagnostics GmbH, cada lote del FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se somete a tests con especificaciones predeterminadas para asegurar la calidad consistente del producto.

12. Soporte técnico

Si necesita asistencia, póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics:

email:	**support@altona-diagnostics.com**
teléfono:	**+49-(0)40-5480676-0**

NOTA

Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con este producto, se notificará a altona Diagnostics y a la autoridad competente del país.

13. Resumen de seguridad y resultados

El resumen de seguridad y resultados elaborado para el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 se puede consultar en la Base de Datos Europea sobre Productos Sanitarios (EUDAMED): https://ec.europa.eu/tools/eudamed.

14. Bibliografía

[1] Kokkayil P, Dhawan B. Ureaplasma: current perspectives. Indian J Med Microbiol. 2015 Apr-Jun;33(2):205-14. doi: 10.4103/0255-0857.154850. PMID: 25865969.

[2] Beeton ML, Payne MS, Jones L. The Role of Ureaplasma spp. in the Development of Nongonococcal Urethritis and Infertility among Men. Clin Microbiol Rev. 2019 Jul 3;32(4):e00137-18. doi: 10.1128/CMR.00137-18. PMID: 31270127; PMCID: PMC6750135.

[3] Deguchi T, Shimada Y, Horie K, Mizutani K, Seike K, Tsuchiya T, Yokoi S, Yasuda M, Ito S. Bacterial loads of Ureaplasma parvum contribute to the development of inflammatory responses in the male urethra. Int J STD AIDS. 2015 Dec;26(14):1035-9. doi: 10.1177/0956462414565796. Epub 2014 Dec 17. PMID: 25525054.

[4] Rittenschober-Böhm J, Waldhoer T, Schulz SM, et al. Vaginal Ureaplasma parvum serovars and spontaneous preterm birth. Am J Obstet Gynecol 2019;220:594.e1-9.

[5] Ahmed J, Rawre J, Dhawan N, Khanna N, Dhawan B. Mycoplasma hominis: An under recognized pathogen. Indian J Med Microbiol. 2021 Jan;39(1):88-97. doi: 10.1016/j.ijmmb.2020.10.020. Epub 2020 Dec 11. PMID: 33610259.

[6] Taylor-Robinson D, Jensen JS. Mycoplasma genitalium: from Chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011 Jul;24(3):498-514. doi: 10.1128/CMR.00006-11. PMID: 21734246; PMCID: PMC3131060.

[7] Huang, C., Zhu, H.L., Xu, K.R., Wang, S.Y., Fan, L.Q. y Zhu, W.B. (2015), Mycoplasma and ureaplasma infection and male infertility: a systematic review and meta-analysis. Andrology, 3: 809-816. https://doi.org/10.1111/andr.12078

[8] Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. Clin Microbiol Rev. 2005 Oct;18(4):757-89. doi: 10.1128/CMR.18.4.757-789.2005. PMID: 16223956; PMCID: PMC1265909.

[9] CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

15. Marcas comerciales y aviso legal

4s3™ (4titude); AltoStar®, FlexStar® (altona Diagnostics); QuantStudio™ (Applied Biosystems); CFX96™, CFX Manager™ (Bio-Rad); UTM® (Copan); GeneProof™ (GeneProof); Rotor-Gene® (QIAGEN); LOINC® (Regenstrief Institute, Inc.); FAM™, JOE™, MicroAmp™, VIC™ (Thermo Fisher Scientific).

Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. usados en este documento, incluso si no están marcados específicamente como tales, no se deben considerar privados de protección legal.

El FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 es un producto con marcado CE conforme al Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*.

Producto sin licencia de Health Canada y no aprobado ni autorizado por la FDA.

No disponible en todos los países.

© 2026 altona Diagnostics GmbH; todos los derechos reservados.

16. Símbolos

Símbolo	Explicación
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*
GTIN	Número mundial de artículo comercial
LOT	Código de lote
CONT	Contenido
CAP	Color del tapón
REF	Número de catálogo
NUM	Número
COMP	Componente
MAT	Número de material
VN	Número de versión
	Versión
	Consultar instrucciones de uso

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

Símbolo	Explicación
	Contiene suficiente para «n» tests/ reacciones (rxns)
	Límite de temperatura
	Fecha de vencimiento
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Precaución
	Nota
	Contiene material biológico de origen animal

17. Protocolo de ensayo para el AltoStar® Connect Software e información para la integración de LIMS

El código de barras en 2D (ver la figura 15) debe usarse para instalar el último protocolo de ensayo para utilizar el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5 en el AltoStar® AM16. El código de barras solo se puede escanear en forma impresa. Puede escanear el código de barras directamente desde el manual o imprimirlo en una hoja independiente. Tenga en cuenta que el tamaño de la impresión afecta a la capacidad de escaneo del código de barras. Asegúrese de que el tamaño de la escala es del 100 %. Para escanear, dirija el escáner hacia la línea roja en el código de barras. Para obtener más información sobre la gestión de los protocolos de ensayo, consulte el capítulo respectivo en las instrucciones de uso del AltoStar® Connect Software. Para obtener más información sobre la integración de LIMS, consulte la tabla 30.

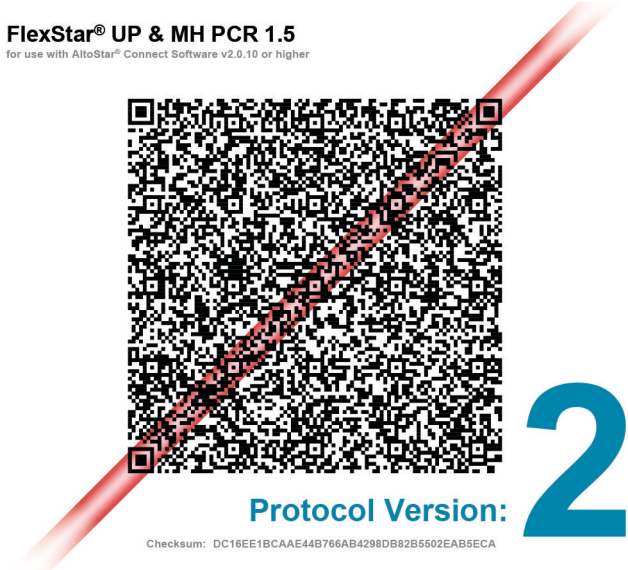


Figura 15: Código de barras para el protocolo de ensayo para el FlexStar® UP & MH PCR Detection Mix 1.5

Tabla 29: Registro de cambios para el protocolo de ensayo

Versión del protocolo	Actualizaciones de versiones
2	Versión inicial para su publicación

Tabla 30: Información para la integración de LIMS

Uso	Datos
Pedido del test (LIMS → AltoStar® AM16) Nombre: ID del ensayo:	*Puede usarse el nombre o la ID del ensayo.* FlexStar UP & MH PCR 1.5 156
Unidad del resultado del test (CFX96™ DW Dx → LIMS)	N/A
Resultado del test (CFX96™ DW Dx → LIMS) canal 1	UP
Resultado del test (CFX96™ DW Dx → LIMS) canal 2	Internal Control
Resultado del test (CFX96™ DW Dx → LIMS) canal 4	MH

Para LOINC® (Logical Observation Identifiers Names and Codes), consulte el sitio web de altona Diagnostics GmbH (www.altona-diagnostics.com) o póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics (consulte el capítulo 12. Soporte técnico).

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

18. Historial de revisiones

Tabla 31: Historial de revisiones

Identificador	Fecha de emisión [mes/año]	Modificaciones
MAN-FS0181540-ES-S01	04/2026	Versión inicial

altona Diagnostics GmbH
Mörkenstr. 12
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0
fax +49 40 548 0676 10
e-mail info@altona-diagnostics.com

www.altona-diagnostics.com

IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

COV-FlexStar-DM-STI-CE-EN-02_10/20

República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Año de la Grandeza Argentina

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2026-100350468-APN-INPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Jueves 15 de Octubre de 2026

Referencia: Rotulo e instrucciones de uso- 79248

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 110 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2026.10.15 10:15:11 -03:00

Lorena Terrizzano
Director Nacional
Instituto Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2026.10.15 10:15:13 -03:00