

Allplex™

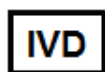
NG & DR Assay

(N.º de cat. SD10367X, SD10368Z)

Sistema real-time PCR multiplex para la detección de *Neisseria gonorrhoeae* y las mutaciones de A2059G y C2611T en el gen rRNA 23S, así como de S91F en la girasa A, responsables de la resistencia a la Azithromycin y a la Ciprofloxacin en *Neisseria gonorrhoeae*.

Para uso con

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



Solo para uso en diagnóstico *in vitro*

REF SD10367X Σ 100

REF SD10368Z Σ 25



Seegene Inc.

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



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Ernst-Heckel-Straße 7, 66386 St. Ingbert, Alemania

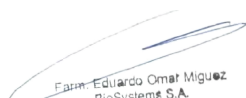
No disponible en los Estados Unidos

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ÍNDICE

AVISOS	3
USO PREVISTO	6
PRINCIPIOS Y DESCRIPCIÓN GENERAL DEL PROCEDIMIENTO	6
ANTECEDENTES	8
REACTIVOS	9
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN	11
MATERIALES NECESARIOS, PERO NO INCLUIDOS	11
PROTOCOLO	12
CONFIGURACIÓN DEL INSTRUMENTO REAL-TIME PCR Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	23
RESULTADOS	43
SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	46
RENDIMIENTO	48
REFERENCIAS	63
CLAVE DE LOS SÍMBOLOS	64
INFORMACIÓN PARA PEDIDOS	66



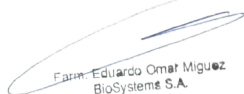
Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dr. MARINA MILA PEREZ
APLICADA
BioSystems S.A.

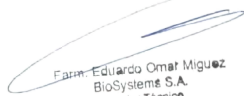
AVISOS

- Solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- El ensayo Allplex™ NG & DR Assay debe realizarlo personal cualificado y con la formación adecuada.
- La fiabilidad de los resultados depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento, transporte y procesamiento de las muestras primarias sean adecuados.
- El producto puede usarse un máximo de 5 veces con las siguientes plataformas automatizadas: **Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS, Seegene STARlet y Seegene STARlet 96MPH**
- **AIOS** combina Seegene STARlet, vendido por Seegene, con el equipo real-time PCR (CFX96 Dx; fabricante: Bio-Rad) y sellador de placas (fabricante: SAMICK THK) para formar una estructura de conexión automatizada de extracción de ácido nucleico para la PCR.
- El producto puede usarse un máximo de 3 veces con AIOS.
- **Esta prueba se ha validado para los siguientes tipos de muestra primaria: orina, hisopo genital, citología líquida, hisopo orofaríngeo (garganta) e hisopo anorrectal.** Este ensayo no se ha validado para otros tipos de muestras primarias.
- **Almacene las muestras de DNA a ≤ -20 °C hasta que las use y consérvelas en hielo durante el uso.**
- La sensibilidad del ensayo puede reducirse si las muestras se congelan y descongelan varias veces o si se almacenan durante más tiempo.
- El flujo de trabajo del laboratorio debe ser unidireccional.
- En todo momento deben usarse guantes desechables y cambiarlos antes de entrar en otras zonas. Cámbiese los guantes inmediatamente si se contaminan o trátelos con reactivo de descontaminación de DNA.
- Los consumibles y el equipo deben ser específicos de las zonas de trabajo y no se deben trasladar de una zona a otra.
- No pipetee con la boca.
- No coma, beba ni fume en las zonas de trabajo del laboratorio. Use guantes sin polvo desechables, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule muestras primarias y reactivos. Lávese bien las manos después de manipular muestras primarias y reactivos de prueba.
- Evite contaminar los reactivos al tomar alícuotas de los tubos. Se recomienda usar puntas de pipeta desechables, estériles y que sean resistentes a los aerosoles.
- No agrupe reactivos de lotes diferentes ni de tubos diferentes del mismo lote.
- No use el producto después de su fecha de caducidad.
- No reutilice los artículos desechables.


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


Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Use tubos con tapón de rosca y evite posibles salpicaduras o contaminación cruzada de muestras primarias durante la preparación.
- Tenga cuidado de no contaminar los reactivos con los ácidos nucleicos extraídos, los productos de PCR ni los controles positivos. Para evitar la contaminación de los reactivos, se recomienda usar puntas con filtro.
- Use zonas de trabajo separadas y segregadas para cada experimento.
- Para evitar la contaminación de las zonas de trabajo con productos amplificados, abra los tubos de reacción de PCR o las tiras solo en las áreas de trabajo designadas después de la amplificación.
- Almacene los controles positivos separados de los reactivos del kit.
- Deben seguirse los procedimientos de seguridad en laboratorios (consulte “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories” y los documentos del CLSI) al manipular muestras primarias. Limpie y desinfecte exhaustivamente todas las superficies de trabajo con hipoclorito de sodio al 0,5% v/v (en agua desionizada o destilada). Los componentes del producto (residuos, envoltorio, etc.) pueden considerarse desechos de laboratorio.
- Deseche los reactivos sin utilizar y los residuos conforme a las normativas nacionales, regionales y locales en vigor.
- La fecha de caducidad es 12 meses a ≤ -20 °C después de la fecha de fabricación. Consulte la fecha de caducidad en la etiqueta.
- Seegene NIMBUS y Seegene STARlet son el mismo equipo que Microlab NIMBUS IVD y Microlab STARlet IVD respectivamente, aunque el fabricante sea diferente. Dado que no ha habido cambios de hardware en los dispositivos, los resultados de la prueba son los mismos.
- El nombre del equipo “CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD” se cambió por “CFX96™ Dx system”. Dado que no ha habido cambios de hardware en los sistemas, se espera que los resultados sean los mismos en ambos.
- El programa “CFX Manager™ Dx Software v3.1” es una versión actualizada de “CFX Manager™ Software-IVD v1.6”. Esta versión actualizada incluye mejoras en el menú “Run (Ejecución)”. Estas mejoras no influyen en los resultados del análisis de datos; por lo tanto, los resultados serán los mismos.
- No lo use si el producto, el etiquetado o el embalaje presentan daños.
- Deseche los materiales utilizados en este ensayo (incluidos reactivos, muestras y viales de tampón utilizados) según las normativas locales, autonómicas y estatales.
- Siga las normativas locales, autonómicas y estatales, así como los procedimientos ambientales sobre desechos de su institución, para eliminar correctamente los reactivos usados y sin usar.

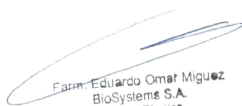


Eduardo Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

- Si en las normativas estatales o autonómicas no hay instrucciones claras sobre la eliminación correcta, las muestras primarias biológicas y el producto usado deben eliminarse de acuerdo con las directrices de manipulación y eliminación de desechos médicos de la WHO (Organización Mundial de la Salud).
- Este kit es una prueba diagnóstica cualitativa *in vitro* para la detección simple o múltiple de *N. gonorrhoeae* (NG) y las mutaciones de A2059G y C2611T en el gen rRNA 23S, así como de S91F en la girasa A, responsables de la resistencia a la Azithromycin y a la Ciprofloxacina en *N. gonorrhoeae* (NG).



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



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

USO PREVISTO

Allplex™ NG & DR Assay es una prueba diagnóstica cualitativa *in vitro* para la detección simple o múltiple de *N. gonorrhoeae* (NG) y la mutación de A2059G y C2611T en el gen rRNA 23S, responsables de la resistencia a la Azithromycin en *N. gonorrhoeae* (NG), así como de S91F en la girasa A, responsable de la resistencia a la Ciprofloxacina en *N. gonorrhoeae* (NG) en muestras primarias de orina, hisopo genital, citología líquida, hisopo orofaríngeo (garganta) e hisopo anorrectal de personas con síntomas de enfermedades de transmisión sexual (ETS).

Allplex™ NG & DR Assay está destinada solo al uso profesional.

PRINCIPIOS Y DESCRIPCIÓN GENERAL DEL PROCEDIMIENTO

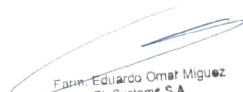
1. Principios

Allplex™ NG & DR Assay incorpora la tecnología MuDT™ de Seegene, que permite proporcionar valores multi-Ct (ciclo umbral) en un solo canal de fluorescencia sin análisis de curvas de fusión en instrumentos Real-time PCR.

Allplex™ NG & DR Assay es un ensayo real-time PCR multiplex que amplifica y detecta simultáneamente los ácidos nucleicos objetivo de *N. gonorrhoeae* (NG) y la mutación de A2059G y C2611T en el gen rRNA 23S, así como de S91F en la girasa A, con control interno (IC). La presencia de la secuencia de patógenos concreta en la reacción se muestra como valor Ct mediante el software de análisis Seegene Viewer. Es necesario el software Seegene Viewer para que el usuario pueda realizar una adecuada interpretación de los resultados. El agente o el ingeniero pueden facilitar el software al usuario.

Se usa un gen humano endógeno como control interno (IC) para supervisar todo el proceso de recogida de la muestra, extracción de ácido nucleico y verificación de posibles inhibiciones de PCR. Sin embargo, debido a las diferencias en la cantidad de células humanas que contienen las muestras de orina e hisopo anorrectal, el IC se añade de manera exógena solo a estas muestras para usarse como un control exógeno de todo el proceso.

Para evitar que el producto de amplificación actúe como potencial contaminante, Allplex™ NG & DR Assay incorpora un sistema de Uracilo-DNA glicosilasa (UDG)-dUTP. Esta tecnología se utiliza comúnmente para eliminar los amplicones sobrantes de la PCR mediante la escisión de los enlaces N-glicosídicos.


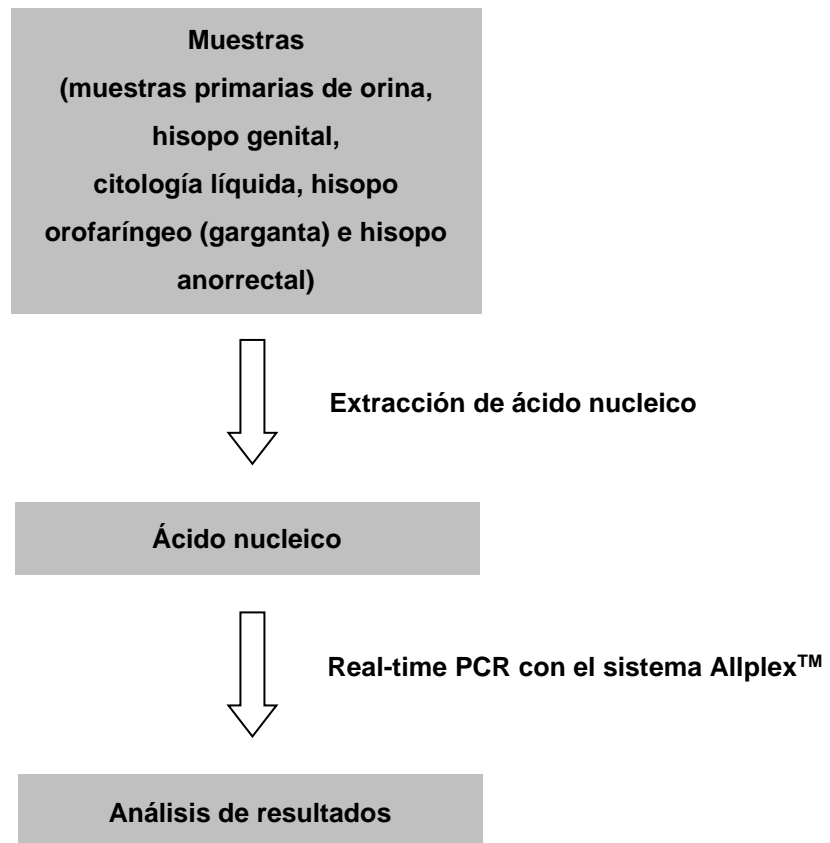


Fernando Omar Miguez
BioSystems S.A.
Director Técnico
M.N. 17503



Dra. MARINA MILA PEREZ
APCERADA
BioSystems S.A.

2. Resumen del procedimiento



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



Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

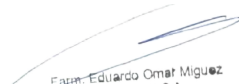
ANTECEDENTES

Las enfermedades de transmisión sexual (ETS) hacen referencia a una serie de síndromes clínicos causados por patógenos que se pueden contraer y transmitir durante las relaciones sexuales. Existen más de 30 patógenos bacterianos, virales y parasitarios transmisibles mediante el acto sexual que pueden causar un grupo de infecciones, denominadas infecciones de transmisión sexual (ITS). Algunas ITS son conocidas por aumentar el riesgo de contraer el HIV y por tener graves secuelas, entre las que se incluyen las infecciones transmitidas de la madre al feto y las enfermedades crónicas.

La gonorrea es una infección de transmisión sexual (ITS) causada por *Neisseria gonorrhoeae* (gonococo) y es una gran prioridad para la salud pública a nivel global. La resistencia antimicrobiana (AMR) generalizada en cepas muy variables de *N. gonorrhoeae* siempre ha comprometido la gestión y el control de la gonorrea.

La adopción del tratamiento antimicrobiano ha dado origen a la aparición de resistencia a sulfonamidas, penicilinas, tetraciclinas, macrólidos, fluoroquinolonas y las primeras cefalosporinas.

Las variantes de *N. gonorrhoeae* resistentes a los antibióticos aparecen mediante mecanismos de mediación por plásmidos o por cromosomas, incluidos los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) o las recombinaciones. Entre los genes que presentan resistencia a los antibióticos para la Azitromicina se encuentran los genes rRNA 23S, que dan lugar a un nivel de resistencia medio o elevado. La resistencia a la Ciprofloxacina es la circunstancia más frecuente entre las mutaciones en los genes *gyrA* y *parC*, que codifican las topoisomerasas II y IV, respectivamente.



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




Dr. MARINA VILA PEREZ
APCERADA
BioSystems S.A.

REACTIVOS

El kit incluye reactivos suficientes para 100 reacciones.

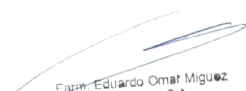
Información para pedidos (**REF** SD10367X)

Allplex™ NG & DR Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	NGDR MOM	500 µL	Oligomezcla MuDT (MOM): - Reactivo de amplificación y detección
PREMIX	SEMX1	500 µL	- DNA polimerasa - Uracilo-DNA glicosilasa (UDG) - Solución tampón con dNTPs
CONTROL +	NGDR PC	50 µL	Control positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones del IC
CONTROL IC	ASTI IC(2)	1.000 µL	Control interno (IC) exógeno para muestras primarias de orina e hisopo anorrectal
WATER	RNase-free Water	1.000 µL	Agua ultrapura sin nucleasas para PCR
	Manual del usuario		

Producto accesorio: software de análisis

Seegene Viewer*


* El software de análisis de resultados lo proporcionan Seegene Inc. o el distribuidor regional. Utilice una versión de Seegene Viewer posterior a V3.


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


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

El kit incluye reactivos suficientes para 25 reacciones.

Información para pedidos (**REF** SD10368Z)

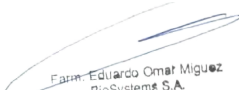
Allplex™ NG & DR Assay			
Símbolo	Contenido	Volumen	Descripción
PRIMER	NGDR MOM	125 µL	Oligomezcla MuDT (MOM): - Reactivo de amplificación y detección
PREMIX	SEMX1	125 µL	- DNA polimerasa - Uracilo-DNA glicosilasa (UDG) - Solución tampón con dNTPs
CONTROL +	NGDR PC	50 µL	Control positivo (PC): - Mezcla de patógenos y clones del IC
CONTROL IC	ASTI IC(2)	250 µL	Control interno (IC) exógeno para muestras primarias de orina e hisopo anorrectal
WATER	RNase-free Water	1.000 µL	Agua ultrapura sin nucleasas para PCR
	Manual del usuario		

Producto accesorio: software de análisis

Seegene Viewer*

* El software de análisis de resultados lo proporcionan Seegene Inc. o el distribuidor regional.

Utilice una versión de Seegene Viewer posterior a V3.


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


Dra. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Todos los componentes de Allplex™ NG & DR Assay deben almacenarse a $\leq -20\text{ °C}$ y son estables en las condiciones de almacenamiento recomendadas hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Este producto se puede usar durante los 30 días posteriores a la apertura inicial del kit, y su rendimiento no se ve afectado hasta un máximo de 5 ciclos de congelación y descongelación. Si el uso de los reactivos es intermitente, se recomienda almacenarlos en alícuotas.

MATERIALES NECESARIOS, PERO NO INCLUIDOS

- Guantes sin polvo desechables (de látex o nitrilo)
- Pipetas (ajustables) y puntas de pipeta estériles
- Tubos de microcentrífuga de 1,5 mL
- Kit de extracción de ácido nucleico (ver Extracción de ácido nucleico)
- Máquina de hielo
- Centrífuga de sobremesa
- Agitador vórtex
- CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- Low-Profile 0.2 mL 8-Tube Strips without Caps (color blanco, N.º de cat. TLS0851, Bio-Rad)
- Optical Flat 8-Cap Strips (N.º de cat. TCS0803, Bio-Rad)
- Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, low profile, thin wall, skirted, white/white (N.º de cat. HSP9655, Bio-Rad)
- Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, low profile, thin wall, skirted, white/white, barcoded (N.º de cat. HSP9955, Bio-Rad)
- Vial Cap Management System (N.º de cat. 6600532-01, Hamilton)
- AIOS (N.º de cat. SG72100, Seegene)
- Pierceable cap (N.º de cat. 922119, SPL) (solo para uso con AIOS)
- Permanent Clear Heat Seal (N.º de cat. 1814035, Bio-Rad)*
- PX1 PCR plate sealer (sellador automático, N.º de cat. 181-4000, Bio-Rad) *
- Mesa de trabajo estéril
- Solución salina

* Asegúrese de combinar el sellado térmico y el sellador para placas indicados anteriormente.


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


Dra. MARINA VILA PEREZ
APREGRADA
BioSystems S.A.

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

Nota: Todas las muestras deben tratarse como material potencialmente infeccioso. Las muestras deben recogerse, almacenarse y transportarse siguiendo rigurosamente las siguientes normas e instrucciones.

Muestra primaria de orina**Muestra primaria de hisopo genital****Muestra primaria de citología líquida****Muestra primaria de hisopo orofaríngeo (garganta)****Muestra primaria de hisopo anorrectal**

Nota: Para garantizar una alta calidad de las muestras, estas deben transportarse lo más rápidamente posible y a la temperatura indicada.

A. Recogida de las muestras primarias**Muestra primaria de orina**

- Se debe indicar al paciente que no orine durante al menos dos horas antes de la recogida de la muestra primaria.
- Recoja de 10 a 30 mL de orina por la mañana en un recipiente transparente de polipropileno. Cierre y etiquete los recipientes con las muestras. Siga las instrucciones correspondientes al almacenamiento y el transporte.

Muestras primarias de hisopo genital, hisopo orofaríngeo (garganta) e hisopo anorrectal

Utilice los materiales siguientes:

- Los hisopos pueden recogerse y transportarse en los medios de 1 a 3 mL siguientes:
 - ENAT PM 2ML REGULAR APPLICATOR (Copan)
 - UTM with Flocked Swabs (Copan)

Nota: Las muestras primarias de hisopo orofaríngeo (garganta) e hisopo anorrectal no se han validado con UTM with Flocked Swabs (Copan).

- Deje el hisopo en su medio de transporte. Cierre y etiquete el recipiente con la muestra. Siga las instrucciones correspondientes al almacenamiento y el transporte.

- Al utilizar hisopos genitales, siga el protocolo recomendado para recoger células de epitelio cilíndrico y escamoso tras retirar la mucosa cervical.

Muestra primaria de citología líquida

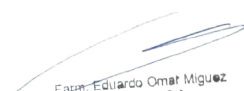
- Utilice el medio de citología líquida ThinPrep®(HOLOGIC, EE. UU.), SurePath™ (Becton-Dickinson, EE. UU.) o CellPreserv (Kolplast, Brasil).
- Siga las instrucciones del fabricante para recoger muestras primarias de cultivo cervical en los medios ThinPrep®, SurePath™ y CellPreserv.

B. Almacenamiento y transporte de las muestras primarias

Muestra primaria		Almacenamiento y transporte		Nota
		Temp.	Duración*	
Muestra primaria de orina		2-8 °C	1 semana	- El rendimiento puede verse afectado por el almacenamiento prolongado de las muestras primarias. - Para el transporte de las muestras primarias se deben seguir las normativas locales y nacionales de transporte de material patógeno.
Muestra primaria de hisopo genital		2-8 °C	1 semana	
Citología líquida	Medio ThinPrep®	2-8 °C** y a temperatura ambiente**	90 días	
	Medio CellPreserv			
Citología líquida	Medio SurePath™	2-8 °C	2 semanas	
Hisopo orofaríngeo (garganta)		2-8 °C	3 días	
Hisopo anorrectal		2-8 °C	2 días	
		-20 °C	1 mes	

* Duración: tiempo transcurrido desde la recogida de las muestras primarias hasta la prueba final (incluye el transporte y el almacenamiento de las muestras primarias antes de la prueba).

** La temperatura idónea de transporte es de 2 a 25 °C.


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


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

2. Extracción de ácido nucleico

A. Pretratamiento de la muestra primaria

Nota: El proceso de pretratamiento para la extracción de ácido nucleico es idéntico tanto para el sistema de extracción manual como para el sistema de extracción automatizada.

Muestras primarias de hisopo genital, hisopo orofaríngeo (garganta) e hisopo anorrectal

- Las muestras primarias de hisopo genital, hisopo orofaríngeo (garganta) e hisopo anorrectal se usan sin pretratamiento.

Nota: El hisopo orofaríngeo (garganta) no se ha validado con SEEPREP32 ni Maelstrom™ 9600.

Nota: El hisopo anorrectal no se ha validado con SEEPREP32.

Muestras primarias de orina y citología líquida

- Equilibre las muestras a temperatura ambiente (19 a 25 °C).
- Centrifugue 1 mL de muestra primaria de orina y citología líquida durante 15 minutos a 15.000 x g (13.000 rpm).
- Tras desechar el sobrenadante, el precipitado se debe volver a suspender en solución salina al volumen recomendado (consulte Vol. recomendado de 2.C) mezclándola en el agitador vórtex.

Nota: Procese el paso de pretratamiento con Lysis Buffer en el kit de extracción, no solución salina, si las muestras se van a recoger en el medio SurePath™ y se van a extraer con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet.

Nota: Los medios orina y ThinPrep® se pueden procesar sin pretratamiento si se va a usar Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS, Seegene STARlet o Seegene STARlet 96MPH.


Nota: SurePath™ se puede procesar sin pretratamiento si se va a usar Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet.

Nota: La orina y ThinPrep® sin pretratamiento no se han validado con QIAamp® DSP DNA Mini Kit, QIAamp® DNA Mini Kit, Ribo_spin vRD kit ni SEEPREP32.

Nota: El uso de SurePath™ después del pretratamiento no se ha validado con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C kit ni STARMag™ S96H N Kit.

Nota: SurePath™ sin pretratamiento no se ha validado con QIAamp® DSP DNA Mini Kit ni QIAamp® DNA Mini Kit.

Nota: SurePath™ no se ha validado con Ribo_spin vRD kit, SEEPREP32 ni Maelstrom™ 9600.


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


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Nota: CellPreserv no requiere un paso de pretratamiento.

- Siga el protocolo del fabricante.

B. Control interno

Nota: Para las muestras primarias, excepto las de orina e hisopo anorrectal, se utiliza un gen endógeno como control interno. No es necesario añadir un IC.

Nota: El IC, que se incluye en el kit, permite al usuario confirmar el procedimiento de extracción de ácido nucleico e identificar las inhibiciones de PCR.

- En el caso de las muestras primarias de orina e hisopo anorrectal, se debe cargar el tubo de ASTI IC(2) en Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS, Seegene STARlet o Seegene STARlet 96MPH, antes del proceso de extracción de ácido nucleico.
- En el caso de las muestras primarias de orina e hisopo anorrectal, debe añadirse ASTI IC(2) a cada muestra primaria antes de la extracción de ácido nucleico.

C. Sistema de extracción de ácido nucleico automatizada

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

C-1. Microlab NIMBUS IVD

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de Microlab NIMBUS IVD.

Sistema de extracción automatizada	Fabricante	N.º de cat.	Vol. recomendado
Microlab NIMBUS IVD	Hamilton	65415-02*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit**	Seegene	EX00013C	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL

* Use los números de catálogo mostrados en la tabla para comprar productos a Seegene Inc.

** El uso de SurePath™ después del pretratamiento no se ha validado con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C kit.

C-2. Microlab STARlet IVD

Opción: Sistema preanalítico (consulte el manual de funcionamiento de Vial Cap Management System)

Sistema preanalítico automatizado	Fabricante	N.º de cat.
Vial Cap Management System	Hamilton	6600532-01*

* Si desea adquirir los productos anteriores de Seegene Inc., use este número de catálogo.

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de Microlab STARlet IVD.

Sistema de extracción automatizada	Fabricante	N.º de cat.	Vol. recomendado
Microlab STARlet IVD	Hamilton	173000-075*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit**	Seegene	EX00013C	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL

* Use los números de catálogo mostrados en la tabla para comprar productos a Seegene Inc.

** El uso de SurePath™ después del pretratamiento no se ha validado con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C kit.

C-3. Seegene NIMBUS

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de Seegene NIMBUS.

Sistema de extracción automatizada	Fabricante	N.º de cat.	Vol. recomendado
Seegene NIMBUS	Seegene	65415-03	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit*	Seegene	EX00013C	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL

* El uso de SurePath™ después del pretratamiento no se ha validado con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C kit.

C-4. Seegene STARlet

Opción: Sistema preanalítico (consulte el manual de funcionamiento de Vial Cap Management System)

Sistema preanalítico automatizado	Fabricante	N.º de cat.
Vial Cap Management System	Hamilton	6600532-01*

* Si desea adquirir los productos anteriores de Seegene Inc., use este número de catálogo.

Opción: Estructura de conexión automatizada (ver el manual de funcionamiento de AIOS)

Estructura de conexión automatizada	Fabricante	N.º de cat.
AIOS	Seegene	SG72100

Nota: Volver a colocar la tapa del control positivo (PC) con una pierceable cap. Tras finalizar la operación, volver a colocar la tapa del control positivo (PC) con la tapa original.

Nota: La pierceable cap es un producto de un solo uso y se debe desechar tras un uso.

Nota: Si se usa con AIOS, este producto se puede usar en un máximo de 3 rondas independientes.

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de Seegene STARlet.

Sistema de extracción automatizada	Fabricante	N.º de cat.	Vol. recomendado
Seegene STARlet	Seegene	67930-03	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit*	Seegene	EX00013C	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL
STARMag™ S96H Kit**	Seegene	EX00032P EX00033P EX00034P EX00035P	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL
STARMag™ S96H N Kit***	Seegene	EX00036P EX00037P	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL

*,*** El uso de SurePath™ después del pretratamiento no se ha validado con STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C kit ni STARMag™ S96H N kit.

** SurePath™ y el hisopo orofaríngeo (garganta) no se han validado con STARMag™

S96H Kit.

, STARMag™ S96H Kit y STARMag™ S96H N Kit se han diseñado y validado para utilizarse con la configuración de Seegene STARlet con CO-RE 96 Probe Head y Seegene STARlet 96MPH.

C-5. Seegene STARlet 96MPH

Nota: Consulte el manual de funcionamiento de Seegene STARlet 96MPH.

Sistema de extracción automatizada	Fabricante	N.º de cat.	Vol. recomendado
Seegene STARlet 96MPH	Seegene	SG71101	-
STARMag™ S96H Kit*	Seegene	EX00032P EX00033P EX00034P EX00035P	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL
STARMag™ S96H N Kit**	Seegene	EX00036P EX00037P	Muestra primaria: 300 µL Elución: 60 µL

* SurePath™ y el hisopo orofaríngeo (garganta) no se han validado con STARMag™ S96H Kit.

** El uso de SurePath™ después del pretratamiento no se ha validado con STARMag™ S96H N Kit.

C-6. SEEPREP32

- Continúe con el proceso de extracción con **“Pro-Protocol A”**.

Sistema de extracción automatizada	Fabricante	N.º de cat.	Vol. recomendado
SEEPREP32	Seegene	SG71100	-
STARMag 96 ProPrep (Plate Type)	Seegene	EX00009P	Muestra primaria: 200 µL* Elución: 100 µL
STARMag 96 ProPrep (Tube Type)	Seegene	EX00009T	Muestra primaria: 200 µL* Elución: 100 µL
STARMag 96 ProPrep C (Plate Type)	Seegene	EX00017P	Muestra primaria: 200 µL* Elución: 100 µL
STARMag 96 ProPrep C (Tube Type)	Seegene	EX00017T	Muestra primaria: 200 µL* Elución: 100 µL

* En el caso de muestras primarias de orina, vuelva a suspender el precipitado en 200 µL de solución salina y añada 10 µL de ASTI IC(2).

Nota: La orina y ThinPrep® sin pretratamiento no se han validado con SEEPREP32.

Nota: SurePath™, el hisopo orofaríngeo (garganta) y el hisopo anorrectal no se han validado con SEEPREP32.

C-7. Maelstrom™ 9600

- Continúe con el proceso de extracción con **“STARMAGM96”**.

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

Nota: SurePath™ y el hisopo orofaríngeo (garganta) no se han validado con Maelstrom™ 9600.

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

** Añada 10 µL de ASTI IC(2) a las muestras primarias de orina e hisopo anorrectal.

D. Kits de extracción de ácido nucleico manual

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

Kit de extracción	Fabricante	N.º de cat.	Vol. recomendado
QIAamp® DSP DNA Mini Kit	QIAGEN	61304	Muestra primaria: 200 µl**** Elución: 50 µL
QIAamp® DNA Mini Kit*	QIAGEN	51304	Muestra primaria: 200 µl**** Elución: 50 µL
Ribo_spin vRD** (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	GeneAll	302-150 SG1701***	Muestra primaria: 200 µl**** Elución: 50 µL

* Procese el paso de lisis con 180 µL de ATL buffer en lugar de AL buffer en caso de que se utilicen medios SurePath™.

** Ribo-spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit) no es compatible con los medios SurePath™.

*** Use los números de catálogo mostrados en la tabla para comprar productos a Seegene Inc.

**** Añada 10 µL de ASTI IC(2) en la muestra primaria de hisopo anorrectal y en la muestra primaria de orina con pretratamiento (es decir, resuspensión del precipitado en 200 µL de solución salina).

Nota: La orina y ThinPrep® sin pretratamiento no se han validado con QIAamp® DSP DNA Mini Kit, QIAamp® DNA Mini Kit ni Ribo-spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit).

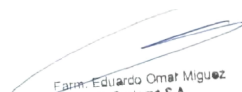
Nota: Surepath™ sin pretratamiento no se ha validado con QIAamp® DSP DNA Mini Kit ni QIAamp® DNA Mini Kit.

E. Resumen

Muestra primaria	Sistema de extracción automatizada											Kits de extracción manual	
	Microlab NIMBUS IVD/STARlet IVD*		Seegene NIMBUS/STARlet*				Seegene STARlet 96MPH		SEEPREP32		Maelstrom™ 9600	QIAamp® DSP DNA Mini Kit	Ribo-spin vRD
	Universal Cartridge Kit	Viral DNA/RNA 200 C Kit	Universal Cartridge Kit	Viral DNA/RNA 200 C Kit	S96H kit**	S96H N kit**	S96H kit**	S96H N kit**	STARMag 96 ProPrep	STARMag 96 ProPrep C			
Orina (con pretratamiento)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Orina (sin pretratamiento)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	X	X	○	X
Hisopo genital (ENAT)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Hisopo genital (UTM)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
ThinPrep® (con pretratamiento)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
ThinPrep® (sin pretratamiento)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	X	X	○	X
SurePath™ (con pretratamiento)	○	X	○	X	X	X	X	X	X	X	X	○	X
SurePath™ (sin pretratamiento)	○	○	○	○	X	○	X	○	X	X	X	X	X
CellPreserv	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Hisopo orofaríngeo (garganta)	○	○	○	○	X	○	X	○	X	X	X	○	○
Hisopo anorrectal	○	○	○	○	○	○	○	○	○	X	X	○	○

* Opcional: AIOS se puede usar con Seegene STARlet.

** STARMag™ S96H Kit y STARMag™ S96H N Kit se han diseñado y validado para utilizarse con la configuración de Seegene STARlet con CO-RE 96 Probe Head y Seegene STARlet 96MPH.


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


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APDADERADA
 BioSystems S.A.

3. Preparación para Real-time PCR

Nota: Deben usarse los tapones y los tubos correctos (ver MATERIALES NECESARIOS, PERO NO INCLUIDOS).

Nota: Deben usarse guantes ajustados y puntas con filtro resistentes a aerosoles al preparar reacciones de PCR. Tenga mucho cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Nota: Descongele completamente todos los reactivos en hielo.

Nota: Centrifugue a baja velocidad los tubos de reactivo para recoger las gotitas residuales del interior del tapón o el sellado.

Nota: Los pasos A a D se procesan automáticamente en Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS, Seegene STARlet y Seegene STARlet 96MPH. Consulte cada manual de funcionamiento.

A. Prepare la PCR Mastermix.

5 µL	NGDR MOM
5 µL	SEMX1
5 µL	RNase-free Water
15 µL	Volumen total de PCR Mastermix

Nota: Calcule la cantidad total de cada reactivo en función del número de reacciones, incluidas muestras y controles.

B. Mezcle en el agitador vórtex con rapidez y centrifugue a baja velocidad brevemente.

C. Divida en partes alícuotas 15 µL de PCR Mastermix en tubos de PCR.

D. Añada 5 µL de ácidos nucleicos de cada muestra al tubo que contiene PCR Mastermix.

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

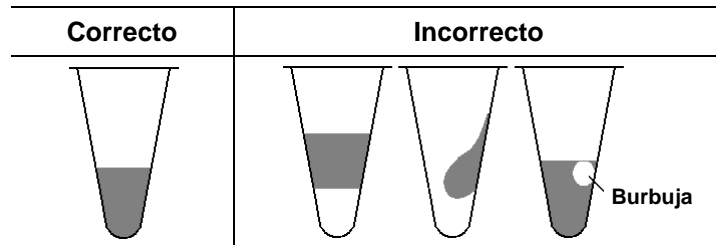
E. Cierre y centrifugue a baja velocidad brevemente los tubos de PCR.

F. Compruebe que el líquido que contiene todos los componentes de PCR esté en la parte inferior de cada tubo de PCR. Si no lo está, centrifugue de nuevo a más rpm durante más tiempo.

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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




Nota: Use una punta de pipeta estéril nueva para cada muestra.

Nota: Para el **control negativo (NC)**, use 5 μ L de RNase-free Water en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Para el **control positivo (PC)**, use 5 μ L de NGDR PC en lugar del ácido nucleico de la muestra.

Nota: Tenga cuidado de no contaminar de forma cruzada la PCR Mastermix o las muestras con el control positivo.

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


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


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

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

1.1. Configuración del instrumento Real-time PCR

Nota: La configuración del experimento de CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) puede dividirse en tres pasos: Protocol Setup (Configuración del protocolo), Plate Setup (Configuración de la placa) y Start Run (Iniciar ejecución).

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

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

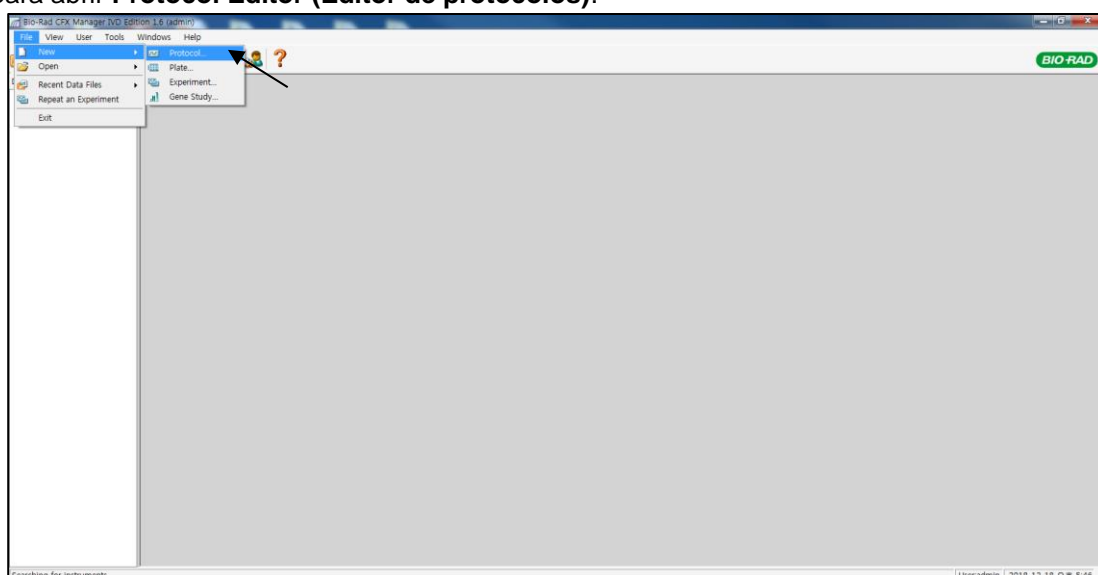


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolos)**, defina el perfil térmico como se indica a continuación:

Paso	Núm. ciclos	Temperatura	Duración
1	1	95 °C	15 min
2		95 °C	3 s
3*	45	60 °C	10 s
4*		72 °C	10 s
5	Paso GOTO (IR A) 2, 44 veces más		

Nota*: Lectura de placa en paso 3 y 4. Se detecta fluorescencia a 60 °C y 72 °C.

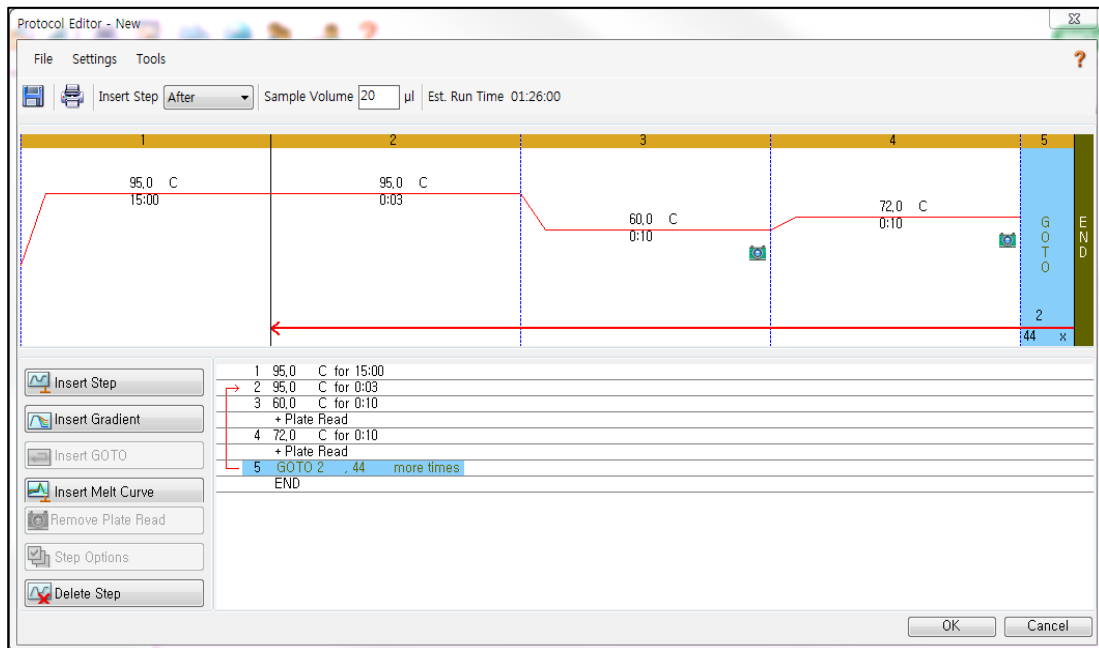


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolos)

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

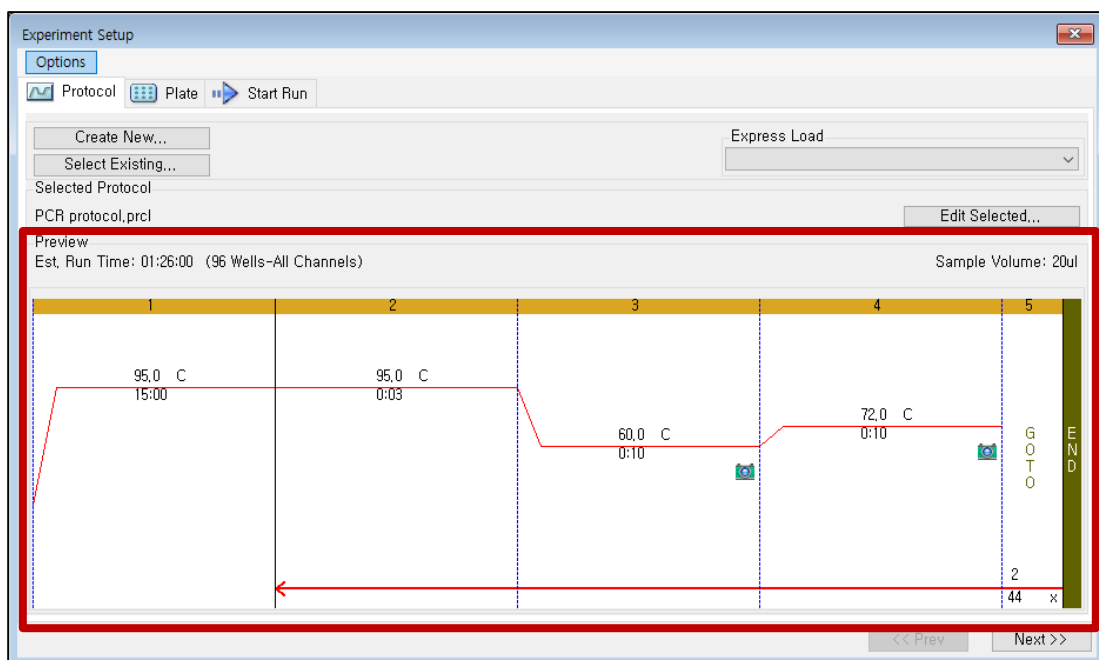


Fig. 3. Experiment Setup (Configuración del experimento): Protocol (Protocolo)

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

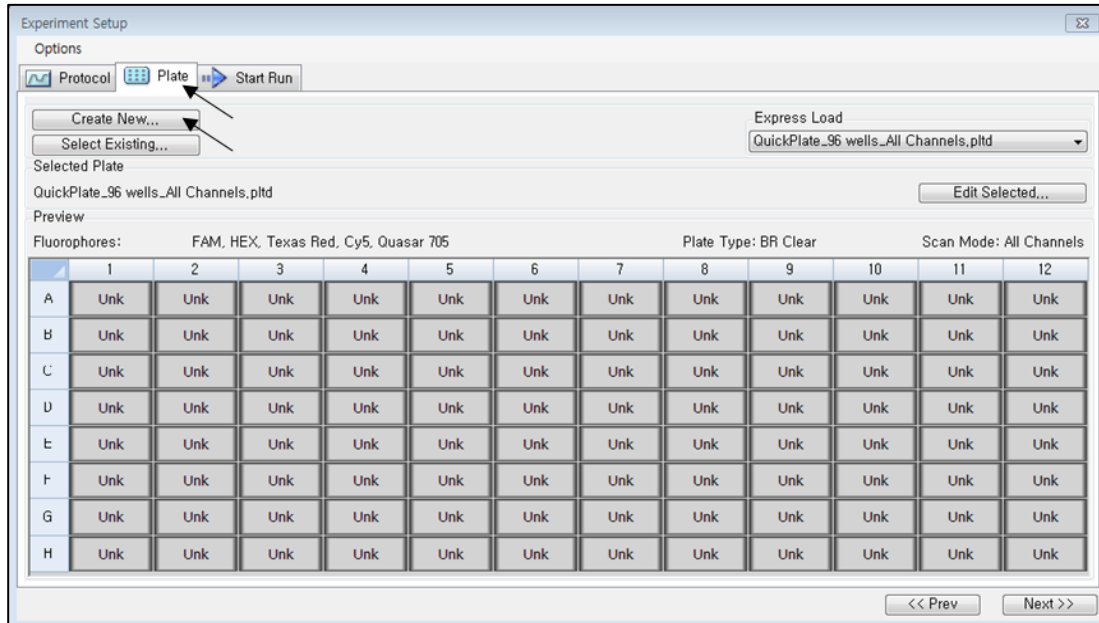


Fig. 4. Plate Editor (Editor de placas)

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

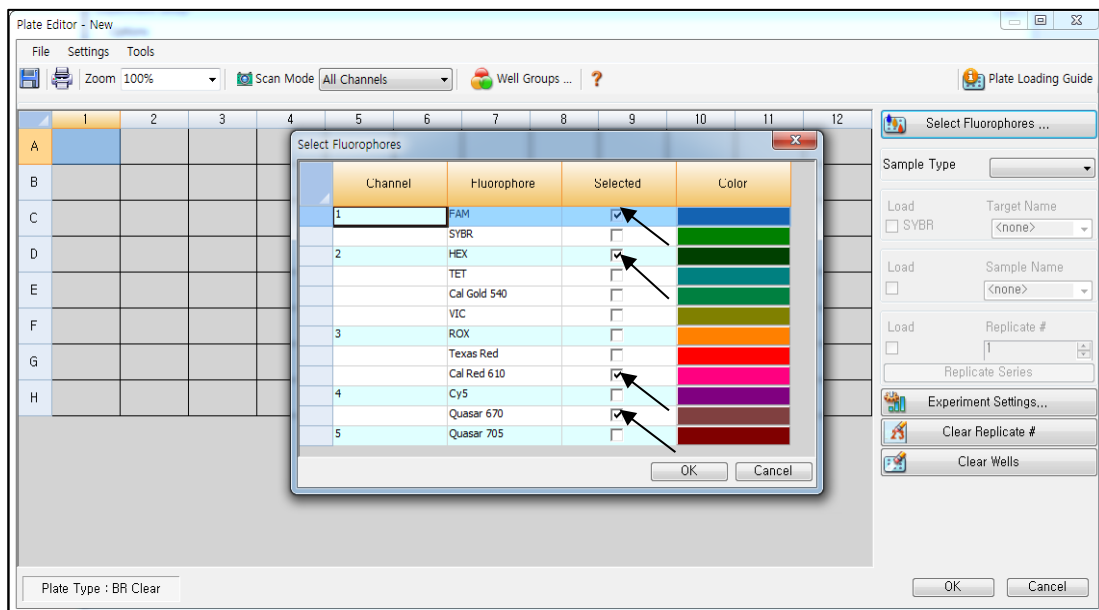


Fig. 5. Select Fluorophores (Seleccionar fluorocromos) (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)

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

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

4) Haga clic en las casillas correspondientes (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluorocromos que se detectarán en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y pulse la tecla Entrar.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal **Plate Editor (Editor de placas)**, elija **Plate Size (96 wells) (Tamaño de placa [96 pocillos])** y **Plate Type (BR White) (Tipo de placa [blanco BR])**.

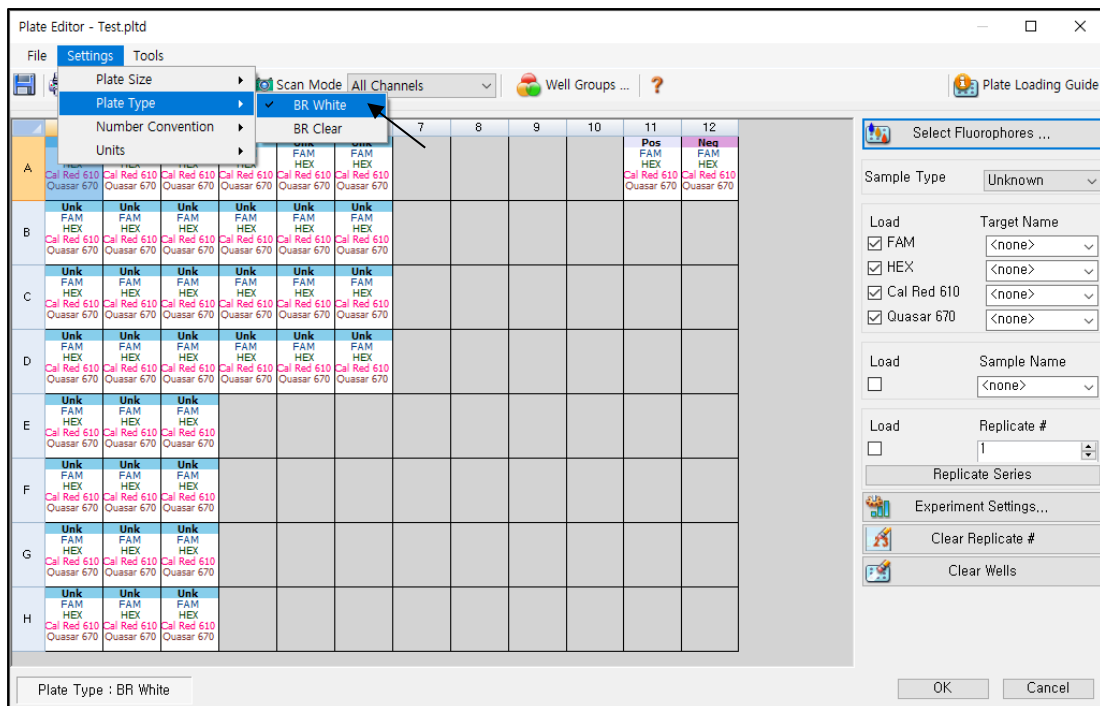


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

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

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

Dra. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

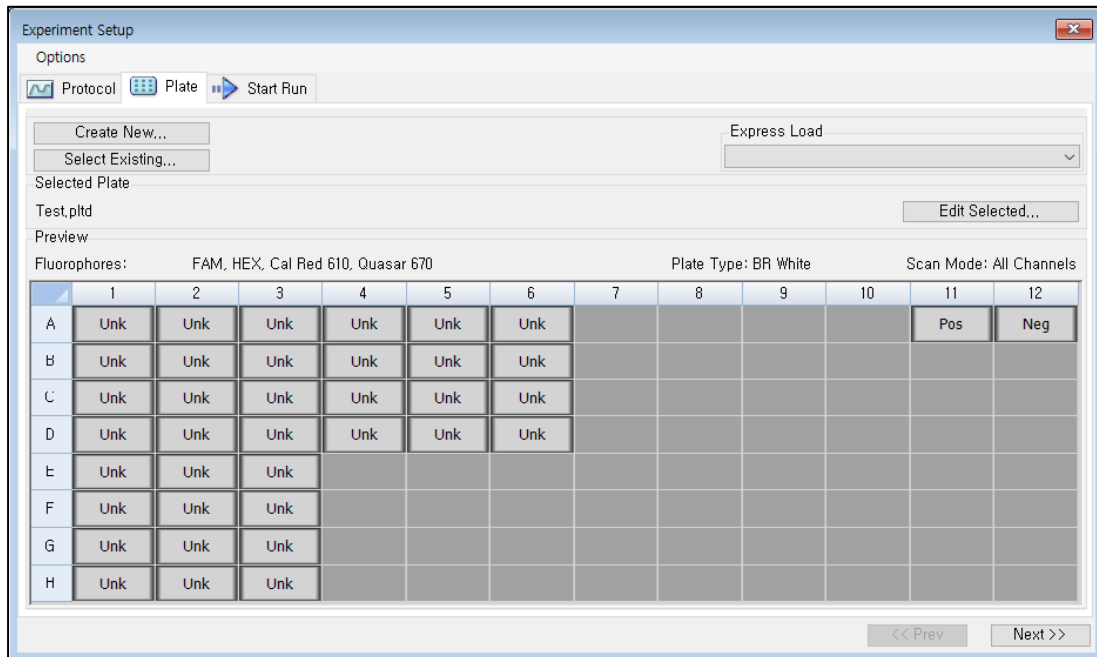


Fig. 7. Experiment Setup (Configuración del experimento): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para ir a Start Run (Iniciar ejecución).

C. Start Run (Iniciar ejecución)

1) En la ficha **Start Run (Iniciar ejecución)** de **Experiment Setup (Configuración del experimento)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

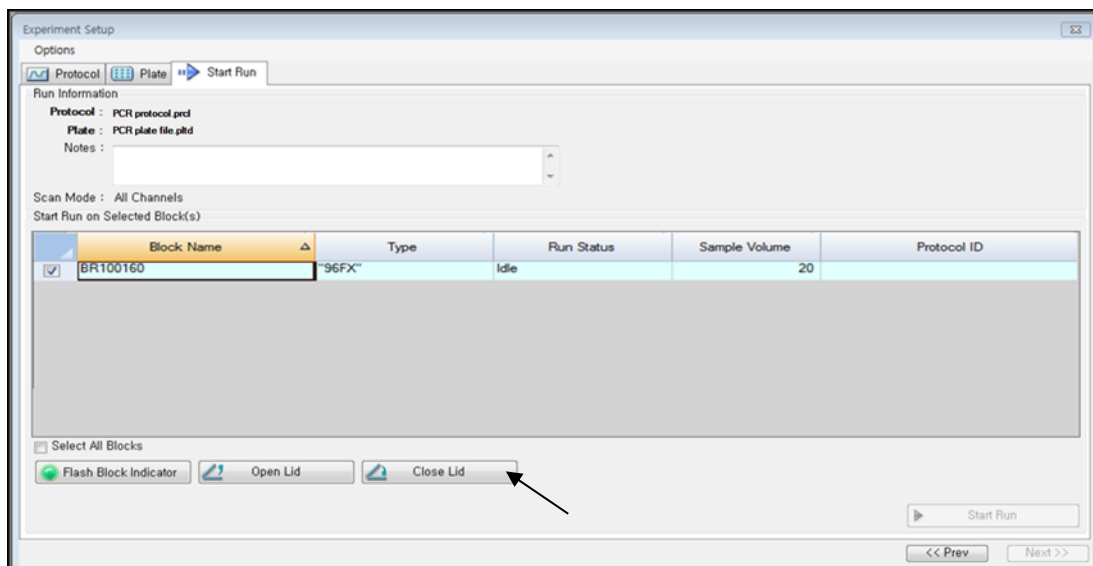
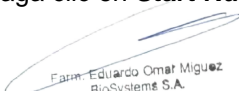


Fig. 8. Close Lid (Cerrar tapa)

2) Haga clic en **Start Run (Iniciar ejecución)**.


 Firm: Eduardo Omar Miguez
 BioSysteme S.A.
 Ingesta Técnica
 M.N. 17503


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APDERADA
 BioSystems S.A.

3) Almacene el archivo de la ejecución en My Documents (Mis documentos) o en una carpeta específica. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y se iniciará la ejecución.

1.2. Data Analysis (Análisis de datos)

A. Cree carpetas para la exportación de datos

1) Para guardar datos de todos los pasos de detección de las curvas de amplificación desde el archivo de resultados, cree una carpeta.

2) El nombre de la carpeta puede ser el que desee el usuario (para la función “Seegene Export” (Exportación de Seegene), se crean automáticamente las carpetas “QuantStep3” y “QuantStep4” para guardar los datos de cada curva de amplificación en la carpeta creada por el usuario).

B. Preconfiguración de Data Analysis (Análisis de datos) en CFX Manager™

1) Después de la prueba, haga clic en la ficha **Quantitation (Cuantificación)** para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

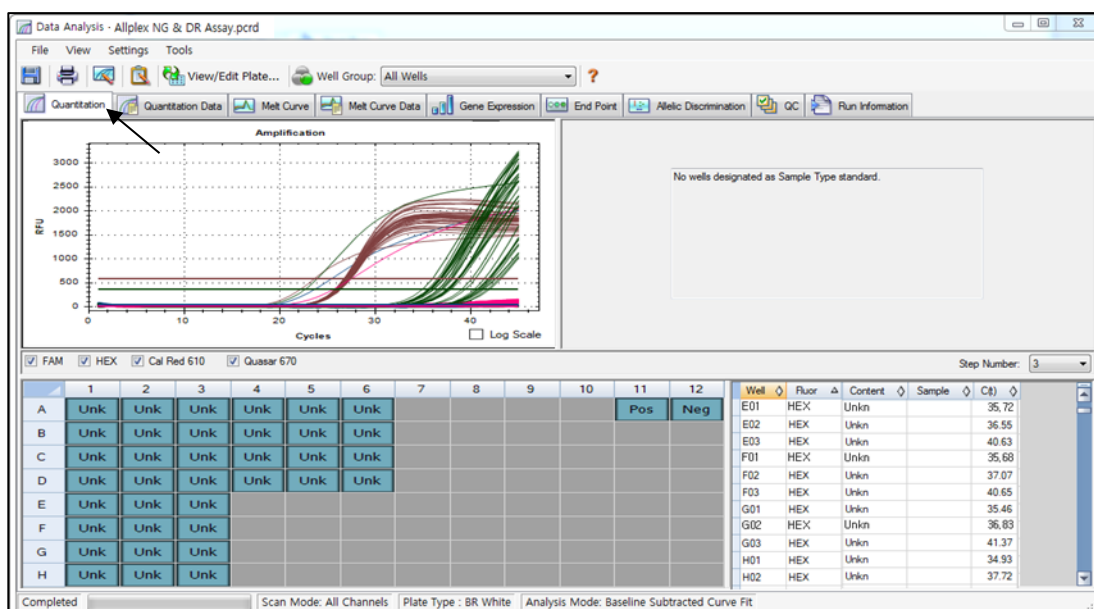


Fig. 9. Amplification curve results (Resultados de la curva de amplificación)

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

Dr. MARINA MILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (Sin resta de línea de base)** en Analysis Mode (Modo de análisis) en el menú Settings (Configuración).

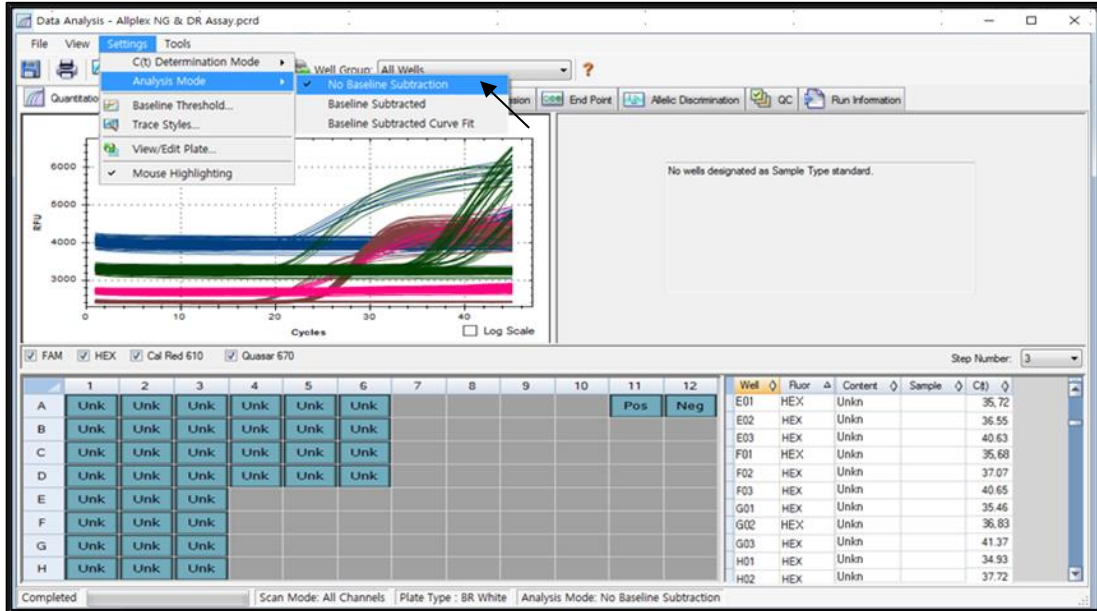


Fig. 10. No Baseline Subtraction (Sin resta de línea de base)

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

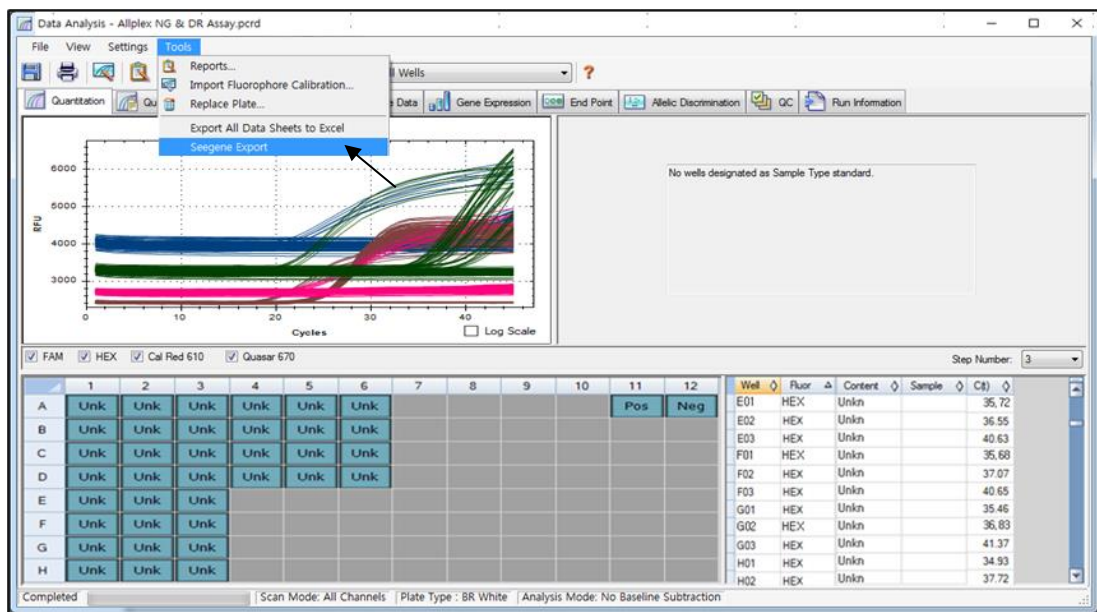


Fig. 11. Seegene Export (Exportación de Seegene)

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

Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

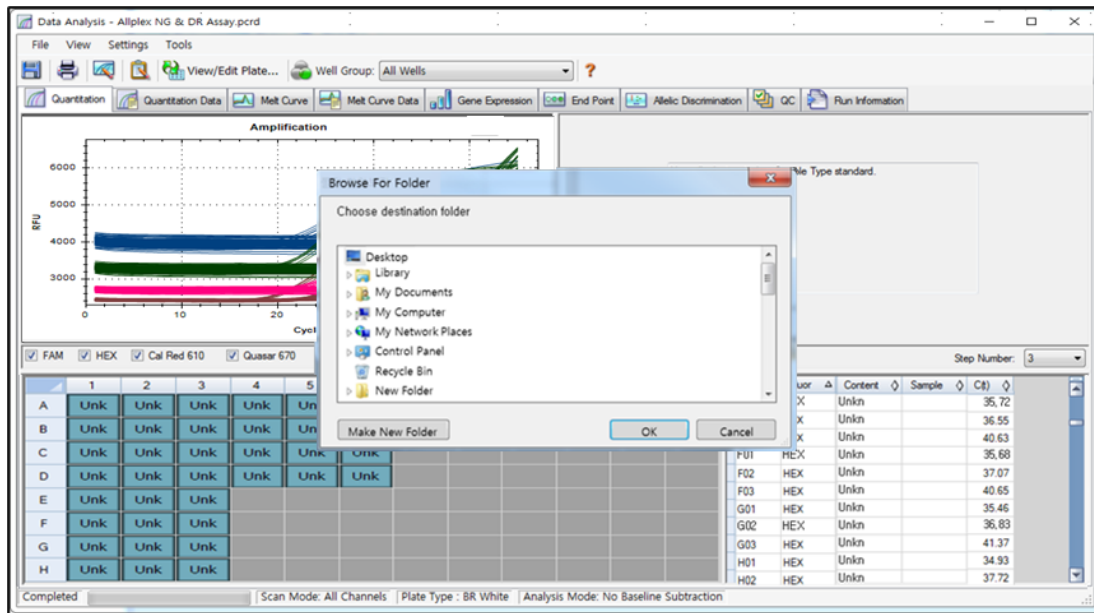


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta específica

C. Configuración de Data Analysis (Análisis de datos) en Seegene Viewer

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

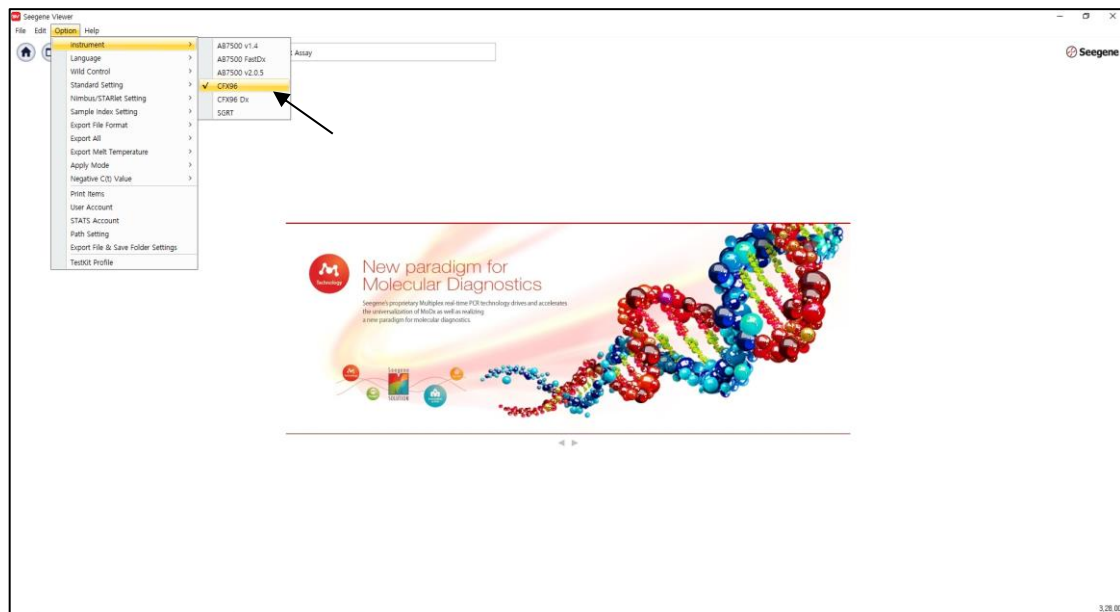


Fig. 13. Seegene Viewer

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

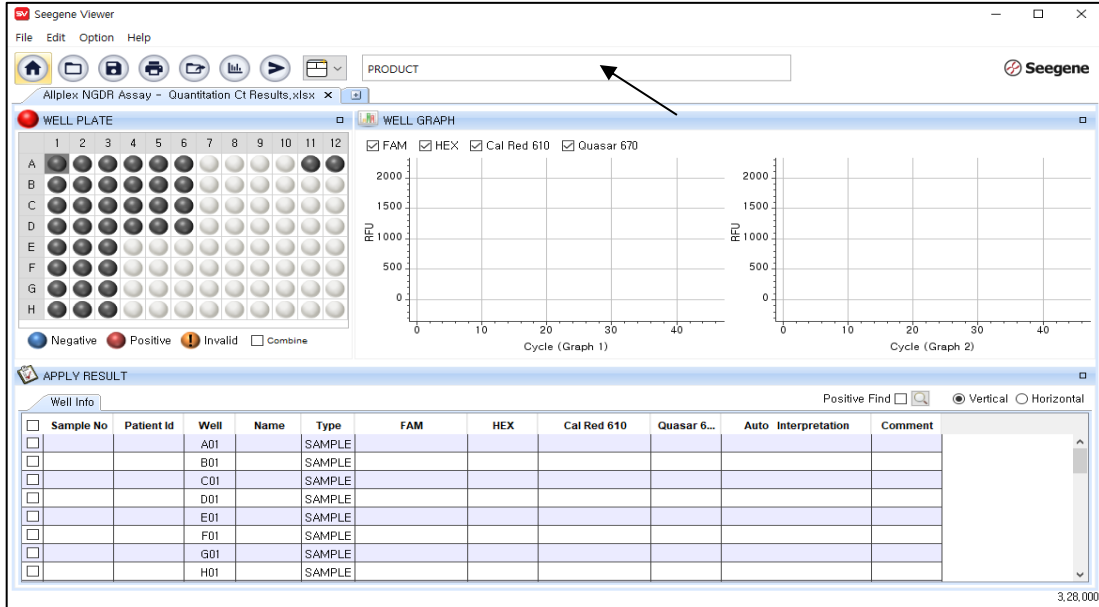


Fig. 14. Configuración de Data Analysis (Análisis de datos) en Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

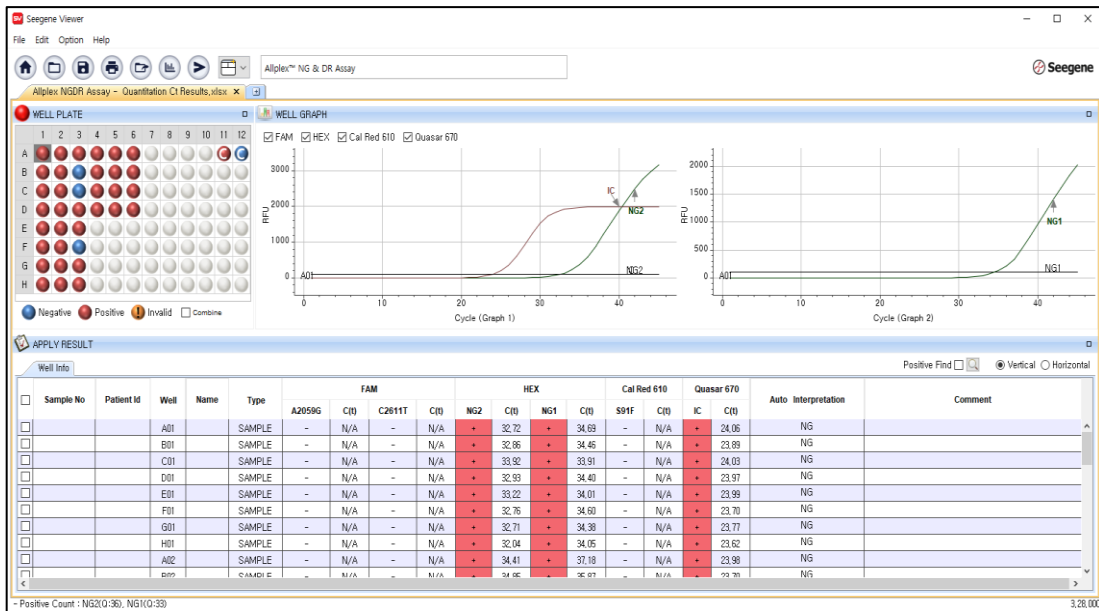


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

4) Criterios de validez de los resultados de control

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APROBADA
BioSystems S.A.

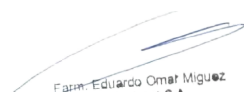
a. Ejecución del ensayo válida

Para confirmar la validez de los experimentos, las ejecuciones de PCR deben ir acompañadas de PC (control positivo) y NC (control negativo). Se determina que la ejecución del ensayo es válida cuando se cumplen todos los criterios siguientes:

Control	Resultado de Seegene Viewer						Interpretación automática
	FAM (Ct)		HEX (Ct)		Cal Red 610 (Ct)	Quasar670 (Ct)	
	A2059G	C2611T	NG2	NG1	S91F	IC	
Control positivo	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	Control positivo (+)
Control negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control negativo (-)

b. Ejecución del ensayo no válida

En caso de fallo de la validez, los resultados de la muestra no deben interpretarse ni debe informarse de ellos, y la ejecución debe repetirse.



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



Dr. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

2.1. Configuración del instrumento Real-time PCR

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

A. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

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

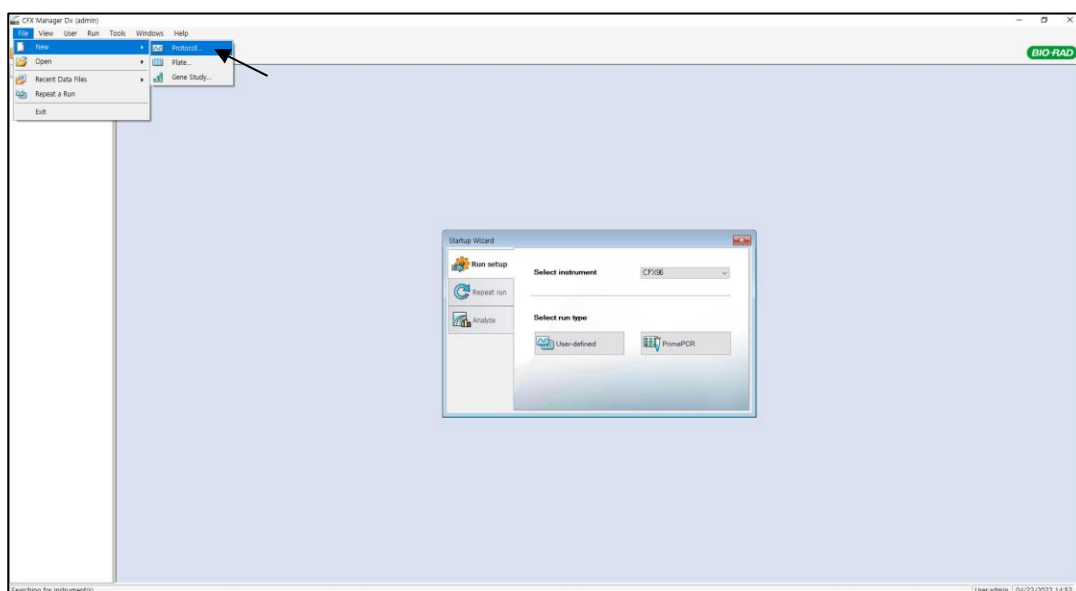


Fig. 1. Protocol Setup (Configuración del protocolo)

2) En **Protocol Editor (Editor de protocolos)**, defina el perfil térmico como se indica a continuación:

Paso	Núm. ciclos	Temperatura	Duración
1	1	95 °C	15 min
2		95 °C	3 s
3*	45	60 °C	10 s
4*		72 °C	10 s
5	Paso GOTO (IR A) 2, 44 veces más		

Nota*: Lectura de placa en paso 3 y 4. Se detecta fluorescencia a 60 °C y 72 °C.

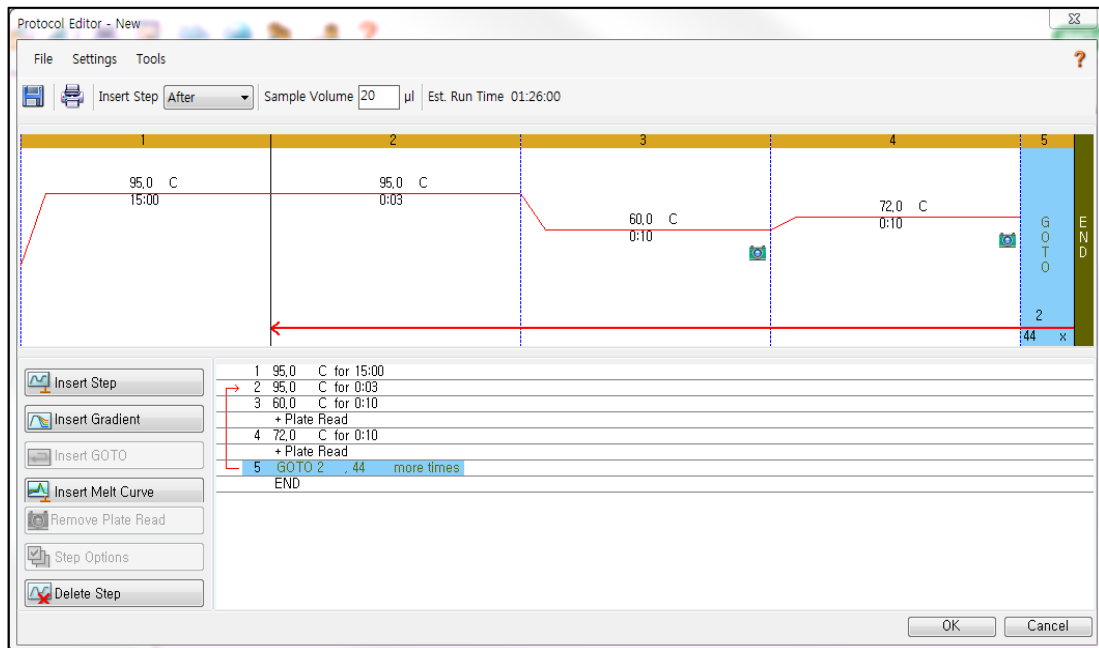


Fig. 2. Protocol Editor (Editor de protocolos)

- 3) Haga clic en el cuadro situado junto a **Sample Volume (Volumen de muestra)** para introducir directamente 20 µL.
- 4) Haga clic en **OK (Aceptar)** y guarde el protocolo para abrir la ventana **Run Setup (Configuración de la ejecución)**.

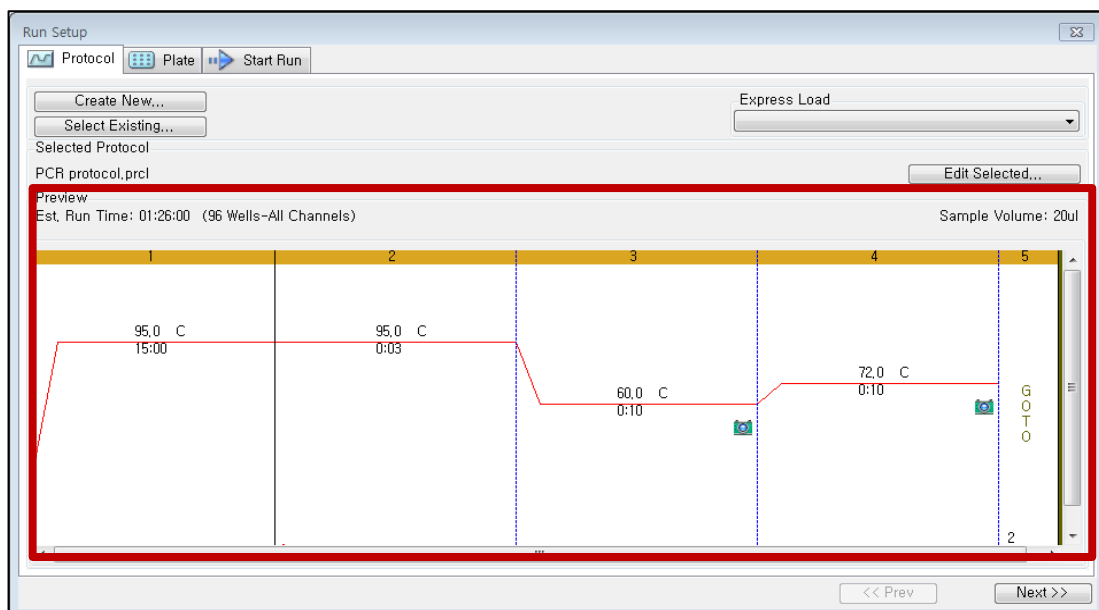


Fig. 3. Run Setup (Configuración de la ejecución): Protocol (Protocolo)

B. Plate Setup (Configuración de la placa)

1) En la ficha **Plate (Placa)** de **Run Setup (Configuración de la ejecución)**, haga clic en **Create New (Crear nuevo)** para abrir la ventana **Plate Editor (Editor de placas)**.

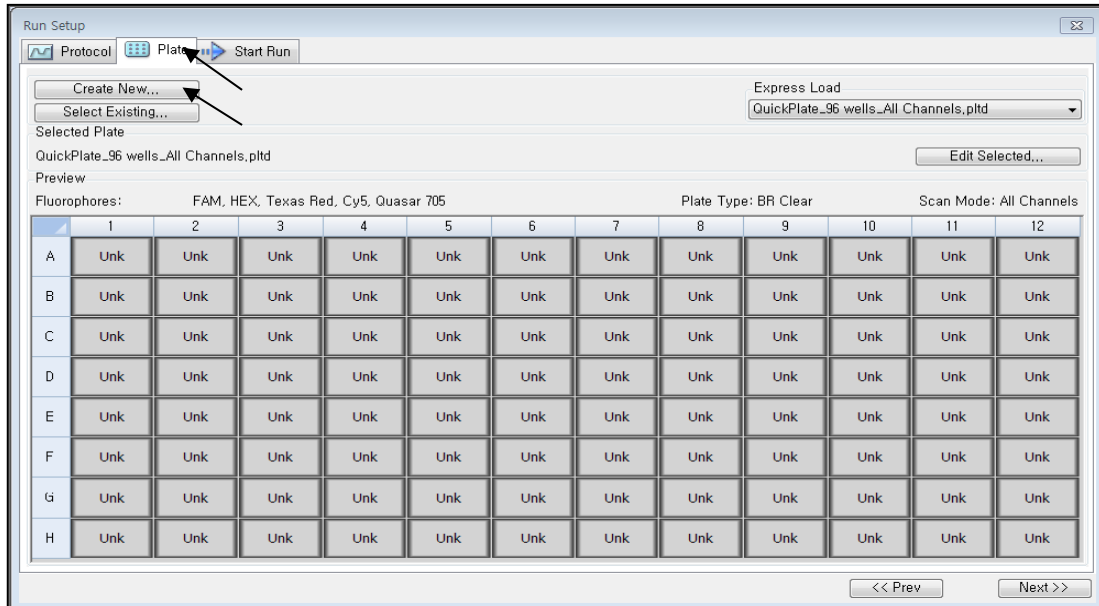


Fig. 4. **Plate Editor (Editor de placas)**

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

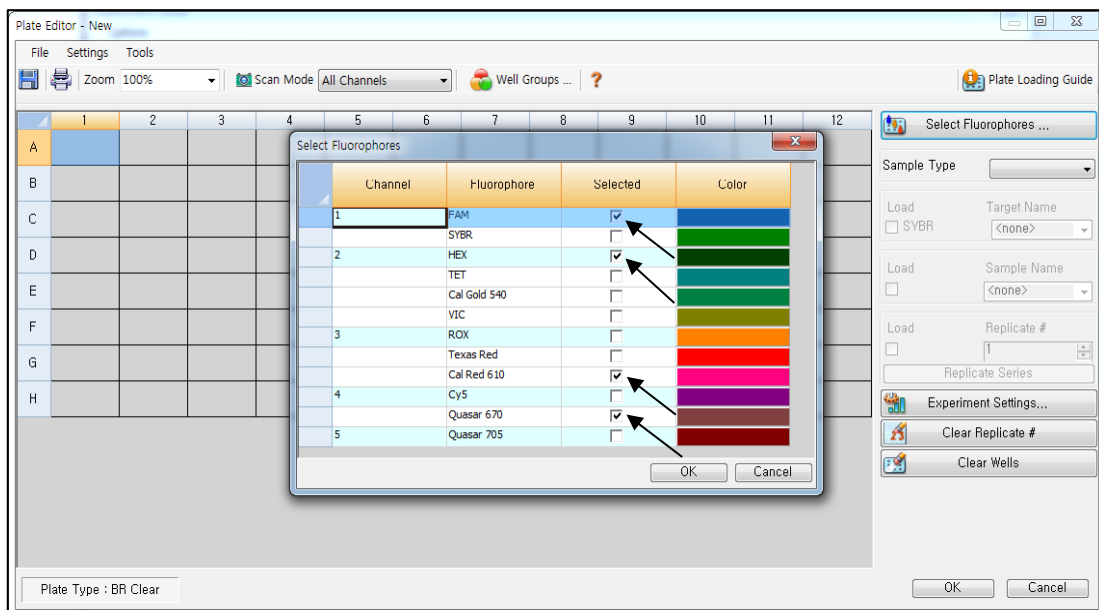


Fig. 5. **Select Fluorophores (Seleccionar fluorocromos) (FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670)**

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

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

4) Haga clic en las casillas correspondientes (**FAM, HEX, Cal Red 610 y Quasar 670**) para especificar los fluorocromos que se detectarán en los pocillos seleccionados.

5) Escriba el **Sample Name (Nombre de la muestra)** y pulse la tecla Entrar.

6) En **Settings (Configuración)** del menú principal **Plate Editor (Editor de placas)**, elija **Plate Size (96 wells) (Tamaño de placa [96 pocillos])** y **Plate Type (BR White) (Tipo de placa [blanco BR])**.

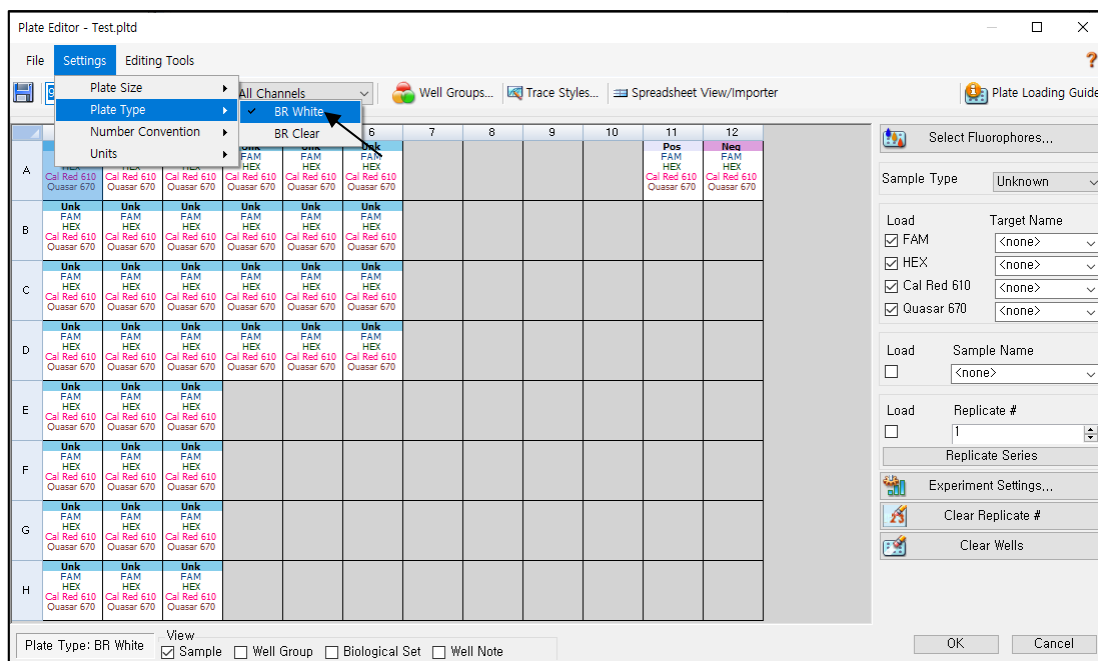


Fig. 6. Plate Setup (Configuración de la placa)

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

8) Volverá a la ventana **Run Setup (Configuración de la ejecución)**.

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

MARINA VILA PEREZ
MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

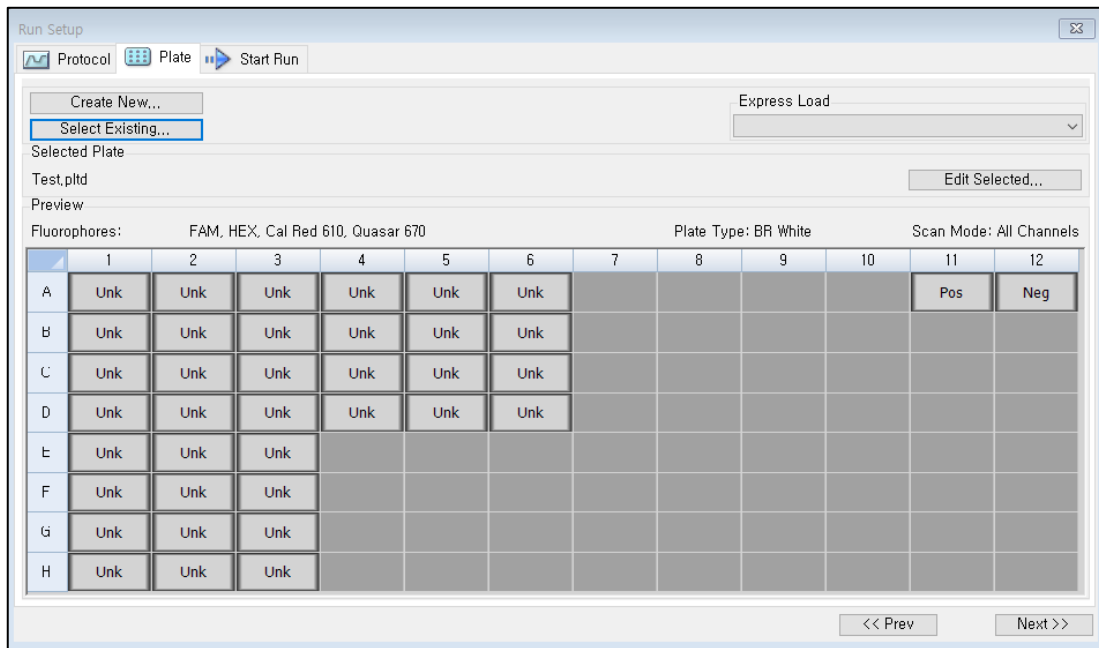


Fig. 7. Run Setup (Configuración de la ejecución): Plate (Placa)

9) Haga clic en **Next (Siguiete)** para ir a Start Run (Iniciar ejecución).

C. Start Run (Iniciar ejecución)

1) En la ficha **Start Run (Iniciar ejecución)** de **Run Setup (Configuración de la ejecución)**, haga clic en **Close Lid (Cerrar tapa)** para cerrar la tapa del instrumento.

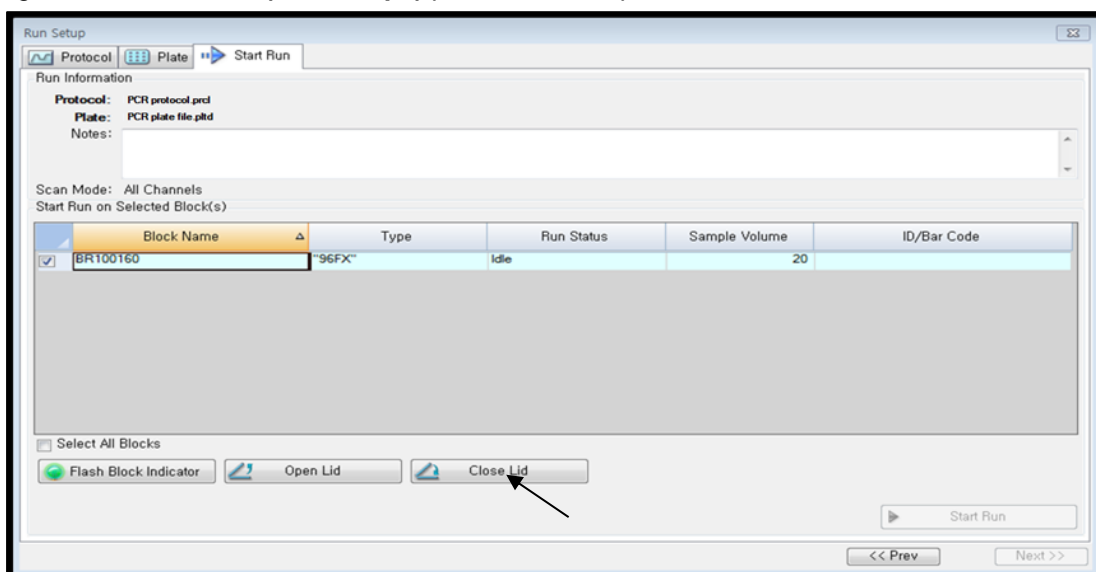


Fig. 8. Close Lid (Cerrar tapa)

- 2) Haga clic en **Start Run (Iniciar ejecución)**.
- 3) Almacene el archivo de la ejecución en My Documents (Mis documentos) o en una carpeta específica. Introduzca el nombre del archivo, haga clic en **SAVE (GUARDAR)** y, a continuación, se iniciará la ejecución.

2.2. Data Analysis (Análisis de datos)

A. Cree carpetas para la exportación de datos

- 1) Para guardar datos de todos los pasos de detección de las curvas de amplificación desde el archivo de resultados, cree una carpeta.
- 2) El nombre de la carpeta puede ser el que desee el usuario (para la función “Seegene Export” (Exportación de Seegene), se crean automáticamente las carpetas “QuantStep3” y “QuantStep4” para guardar los datos de cada curva de amplificación en la carpeta creada por el usuario).

B. Preconfiguración de Data Analysis (Análisis de datos) en CFX Manager™

- 1) Después de la prueba, haga clic en la ficha **Quantification (Cuantificación)** para confirmar los resultados de la curva de amplificación.

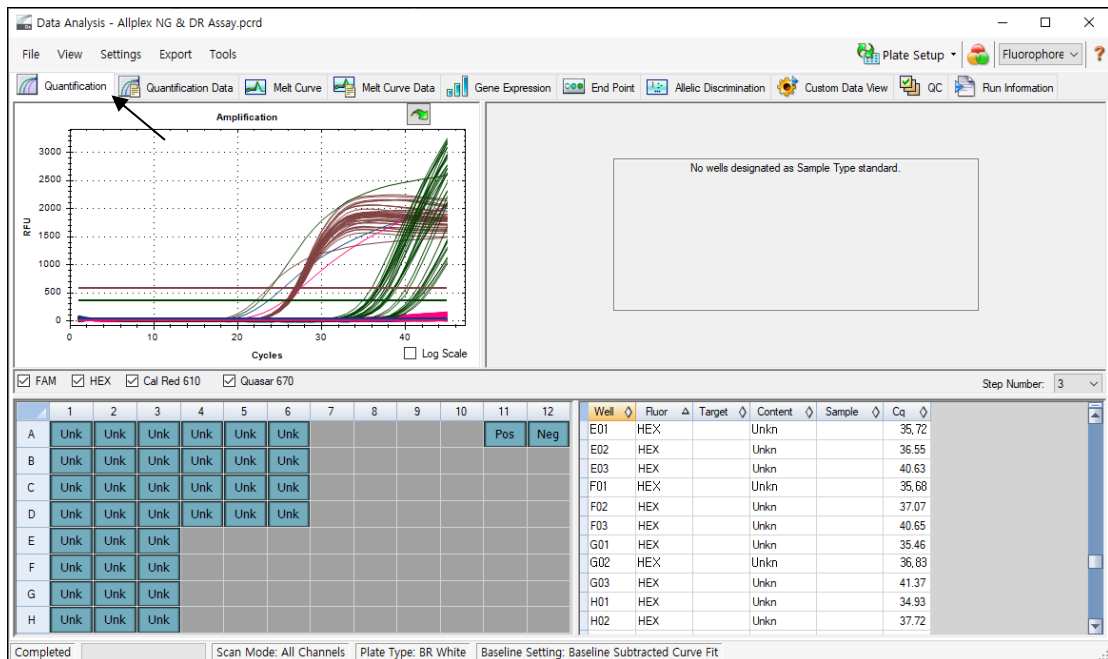


Fig. 9. Amplification curve results (Resultados de la curva de amplificación)

2) Seleccione **No Baseline Subtraction (Sin resta de línea de base)** en **Baseline Setting (Configuración de la línea de base)** en el menú **Settings (Configuración)**.

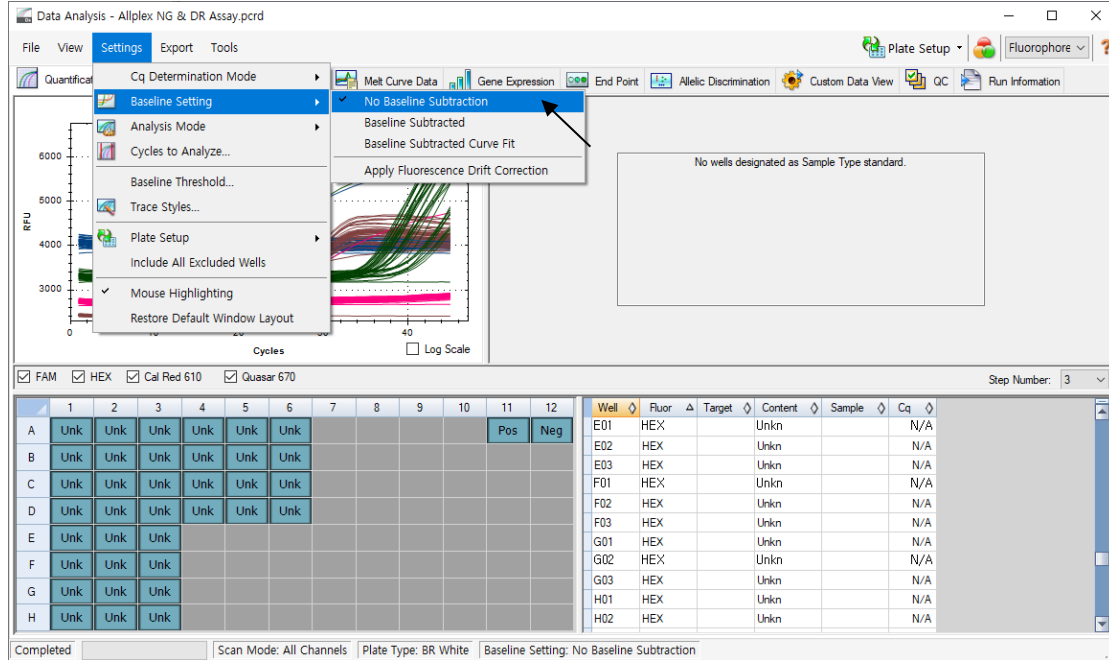


Fig. 10. **No Baseline Subtraction (Sin resta de línea de base)**

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

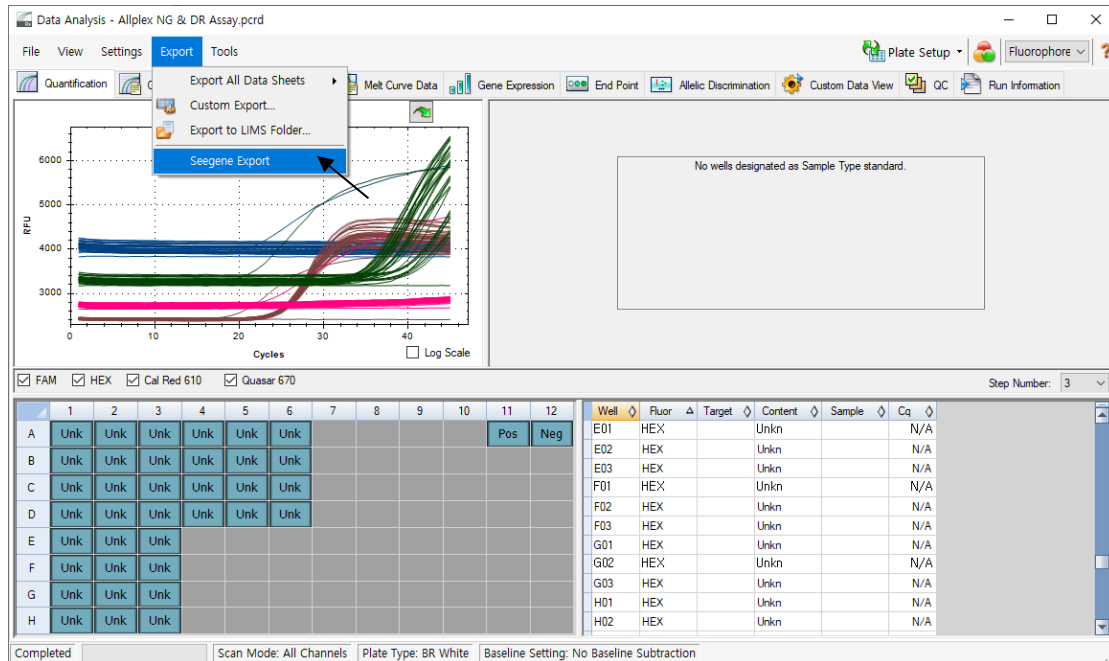


Fig. 11. **Seegene Export (Exportación de Seegene)**

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

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

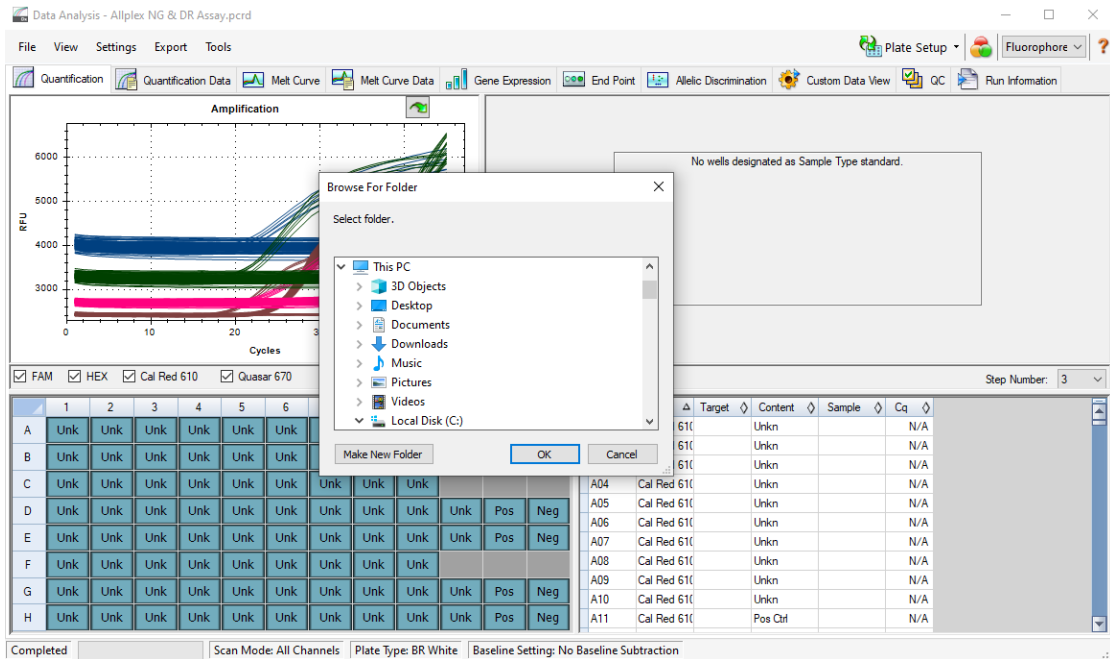


Fig. 12. Seegene Export (Exportación de Seegene) a la carpeta específica

C. Configuración de Data Analysis (Análisis de datos) en Seegene Viewer

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



Fig. 13. Seegene Viewer

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

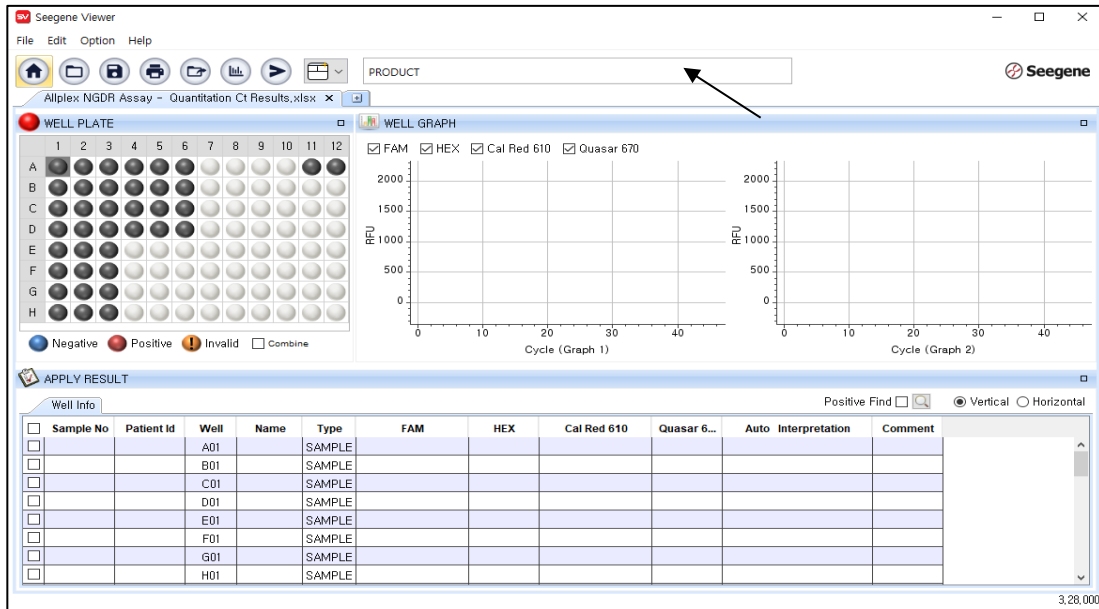


Fig. 14. Configuración de Data Analysis (Análisis de datos) en Seegene Viewer

3) Compruebe el resultado de cada pocillo.

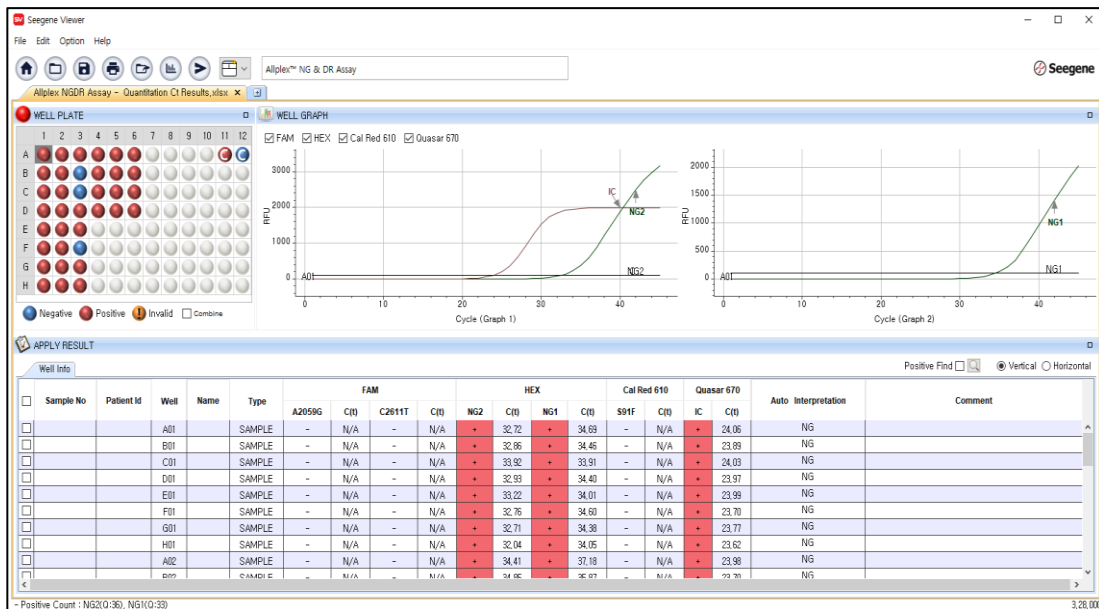


Fig. 15. Resultado de la prueba en Seegene Viewer

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

Dr. MARIANA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

4) Criterios de validez de los resultados de control

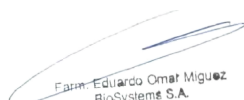
a. Ejecución del ensayo válida

Para confirmar la validez de los experimentos, las ejecuciones de PCR deben ir acompañadas de PC (control positivo) y NC (control negativo). Se determina que la ejecución del ensayo es válida cuando se cumplen todos los criterios siguientes:

Control	Resultado de Seegene Viewer						Interpretación automática
	FAM (Ct)		HEX (Ct)		Cal Red 610 (Ct)	Quasar670 (Ct)	
	A2059G	C2611T	NG2	NG1	S91F	IC	
Control positivo	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	≤ 45	Control positivo (+)
Control negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Control negativo (-)

b. Ejecución del ensayo no válida

En caso de fallo de la validez, los resultados no deben interpretarse ni debe informarse de ellos, y la reacción de PCR debe repetirse.


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

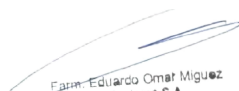

 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APDERADA
 BioSystems S.A.

RESULTADOS
1. Información sobre analitos

Fluorocromo	Analito	
	Gráfico 1	Gráfico 2
FAM	A2059G (mutación de rRNA 23S)	C2611T (mutación de rRNA 23S)
HEX	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> 2 (NG2)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> 1 (NG1)
Cal Red 610	-	S91F (mutación de la girasa A)
Quasar 670	Control interno (IC)	-

2. Interpretación de los resultados

Analito	Valor de Ct	Resultado
Objetivo	≤ 45	Detectado (+)
	N/A	No detectado (-)
IC	≤ 45	Detectado (+)
	N/A	No detectado (-)



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



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Resultado objetivo			Resultado de IC	automática
NG2	NG1	Mutación de rRNA 23S* o mutación de girasa A**		
+	+	+	+	NG y mutación objetivo detectados
+	+	-		NG detectado
-	+	+		No válido¹⁾
+	-			
-	-			
+	+	+	-	NG y mutación objetivo detectados²⁾
+	+	-		NG detectado²⁾ Se debe repetir la prueba para confirmar la mutación objetivo.
-	+	+		No válido¹⁾
+	-			
-	-			
-	+	-	+	Ácido nucleico objetivo, no detectado¹⁾ Se debe repetir la prueba para confirmar NG objetivo.
+	-			
-	-			
-	+	-	-	No válido³⁾ - Los resultados indican que hay inhibidores presentes o que no se ha llevado a cabo correctamente la recogida de muestras primarias o algún proceso (por ejemplo, no se ha añadido IC exógeno). - Repita la prueba desde la extracción de ácido nucleico con otra parte alícuota de la muestra primaria original. - Si obtiene el mismo resultado con el ácido nucleico que ha diluido, vuelva a recoger las muestras.
+	-			
-	-			

* Entre las mutaciones de rRNA 23S se incluyen A2059G y C2611T.

** La mutación de la girasa A incluye S91F.

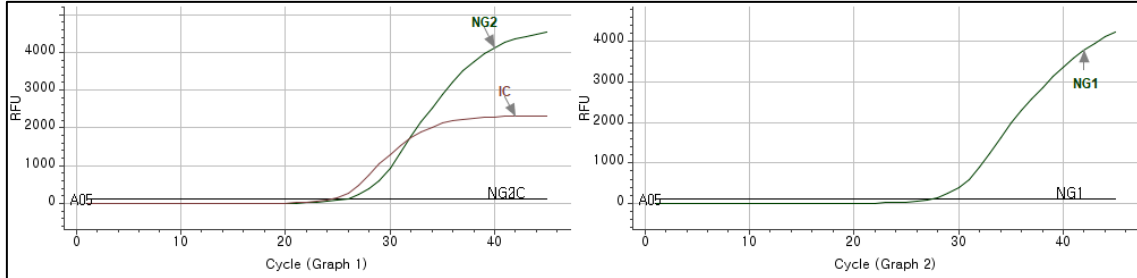
1) Se debe repetir la prueba con el DNA original. Si se obtiene el mismo resultado, consulte los resultados de otros métodos de diagnóstico.

2) Un nivel elevado de ácidos nucleicos objetivo puede causar interferencia en la detección y la lectura del control interno. Una señal de IC no válida no indica que los resultados positivos de los objetivos no son válidos.

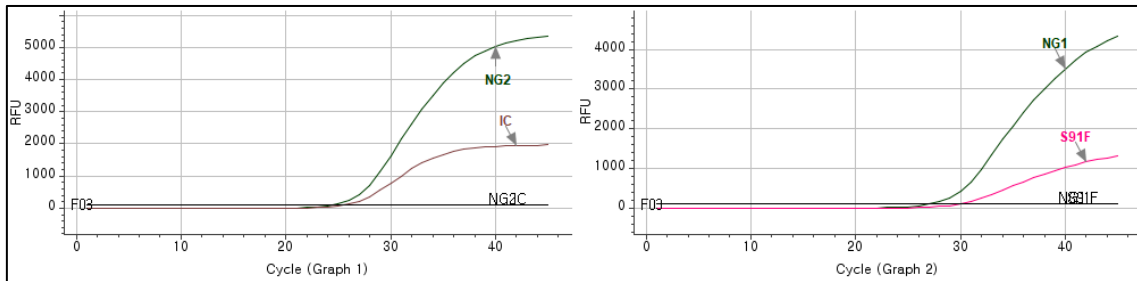
3) Consulte "SOLUCIÓN DE PROBLEMAS" para ver instrucciones detalladas (página 46).

3. Aplicación a muestras clínicas

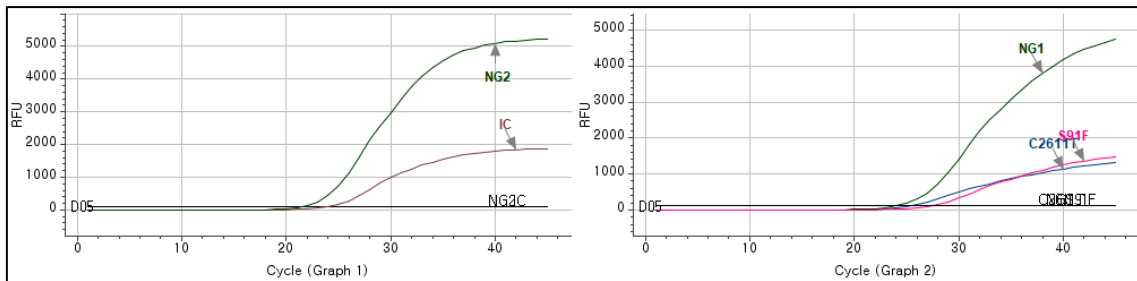
Muestra 1



Muestra 2



Muestra 3



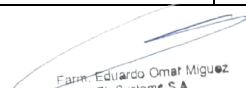
Muestra	FAM				HEX				Cal Red 610		Quasar 670		Interpretación automática
	A2059G	Ct	C2611T	Ct	NG2	Ct	NG1	Ct	S91F	Ct	IC	Ct	
1	-	N/A	-	N/A	+	25,71	+	27,36	-	N/A	+	24,41	NG
2	-	N/A	-	N/A	+	24,55	+	27,22	+	30,11	+	25,54	NG, S91F
3	-	N/A	+	25,10	+	21,60	+	23,93	+	27,21	+	24,17	NG, C2611T, S91F

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

Dr. MARINA VILA PEREZ
APLICADA
BioSystems S.A.


SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Allplex™ NG & DR Assay		
OBSERVACIÓN	CAUSAS PROBABLES	SOLUCIÓN
No hay señal	Los fluorocromos para el análisis de datos no cumplen el protocolo	Seleccione los fluorocromos correctos para el análisis de datos.
	Configuración incorrecta del termociclador real-time	Compruebe las condiciones del ciclo térmico y repita la prueba con la configuración correcta.
	Almacenamiento incorrecto o caducidad vencida del kit de prueba	Compruebe las condiciones de almacenamiento (<u>consulte la página 11</u>) y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta) del kit de prueba y use un kit nuevo si es necesario.
	Fallo de la extracción de ácido nucleico	Si se añadió el IC a la muestra primaria de manera exógena antes de la extracción, la ausencia de la señal de IC puede indicar pérdida de ácidos nucleicos durante la extracción. Asegúrese de usar el método de extracción recomendado. Si el problema se debe a los inhibidores, vuelva a extraer la muestra primaria original o diluya la muestra primaria con tampón salino (1/3-1/10) y, a continuación, añada ASTI IC(2) a la muestra primaria diluida. ASTI IC(2) solo se debe usar con muestras primarias de orina e hisopo anorrectal.
No hay señal de control interno	Error de muestreo o carga elevada de ácido nucleico del patógeno	Si no se observa la señal de patógeno objetivo ni la señal de IC, vuelva a recoger muestras. Si se observa una señal de patógeno objetivo, pero no el IC, es posible que la amplificación del IC se haya inhibido debido a un título elevado de patógeno objetivo. Si desea confirmar la señal de IC, diluya la muestra primaria (1/3-1/10) en tampón salino y repita la prueba desde el paso de extracción.
	Presencia de inhibidor de PCR	Diluya la muestra primaria (1/3-1/10) en tampón salino y repita la prueba desde el paso de extracción.
Picos en cualquier ciclo de la curva de amplificación	Burbuja en el tubo de PCR	Centrifugue el tubo de PCR antes de la ejecución.


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


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APDORADA
 BioSystems S.A.

Allplex™ NG & DR Assay		
OBSERVACIÓN	CAUSAS PROBABLES	SOLUCIÓN
Señales putativas de falso positivo u objetivo observadas en el control negativo	Contaminación	Descontamine las superficies y los instrumentos con hipoclorito de sodio y etanol. Use solo puntas con filtro durante todo el procedimiento y cambie las puntas entre tubos. Repita todo el procedimiento desde la extracción de ácido nucleico con el nuevo conjunto de reactivos.
Señales putativas de falso negativo o ausencia de señal observadas en el control positivo	Error en la recogida de las muestras primarias	Compruebe el método de recogida de las muestras primarias y recoja de nuevo la muestra primaria.
	Almacenamiento incorrecto de la muestra primaria	Recoja de nuevo la muestra primaria y repita todo el procedimiento. Asegúrese de que la muestra primaria se almacene como se recomienda.
	Error en la extracción de ácido nucleico	Compruebe el procedimiento de extracción de ácido nucleico y la concentración de ácido nucleico y vuelva a extraer el ácido nucleico.
	Error en la adición de ácido nucleico a los tubos de PCR correspondientes	Compruebe los números de muestra de los tubos que contienen ácido nucleico, asegúrese de añadir ácido nucleico a los tubos de PCR correctos y repita con cuidado la prueba si es necesario.
	Presencia de inhibidor	Diluya la muestra primaria (1/3-1/10) en tampón salino y repita la prueba desde el paso de extracción.
	Mezcla de PCR incorrecta	Confirme que se hayan añadido todos los componentes a la mezcla de RT-PCR (la sensibilidad se pone en riesgo con la premezcla precompuesta). Todos los reactivos deben homogeneizarse y centrifugarse antes de usarse.



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



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

RENDIMIENTO
1. Especificidad

La elevada especificidad de Allplex™ NG & DR Assay la garantizan los oligonucleótidos diseñados específicamente para los objetivos de interés en las condiciones de reacción establecidas. Se probó la reactividad cruzada de Allplex™ NG & DR Assay con 148 patógenos diferentes, y solo se identificaron detección y amplificación de PCR en los objetivos especificados, si bien el resultado se probó mediante análisis de secuenciación.

N.º	Organismo	Origen	N.º cepa aislada	Resultado †
1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ZMC	801482	NG detectado
2	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	19424	NG detectado
3	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	700825	NG detectado
4	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	31426	NG detectado
5	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	43069	NG detectado
6	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	43070	NG detectado
7	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	49226	NG detectado
8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC	49981	NG detectado
9	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ¹⁾	NCTC	13798	NG y S91F detectados
10	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ¹⁾	NCTC	13800	NG y S91F detectados
11	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ^{1,2)}	NCTC	13817	NG y C2611T detectados
12	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ^{1,3)}	NCTC	13818	NG, A2059G y S91F detectados
13	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ^{1,4)}	NCTC	13821	NG y S91F detectados
14	<i>Acinetobacter baumannii</i>	KCCM	35453	No detectado
15	<i>Acinetobacter schindleri</i>	KCTC	12409	No detectado
16	<i>Acinetobacter ursingii</i>	KCTC	12410	No detectado
17	Adenovirus 40	ATCC	VR-931	No detectado
18	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	ATCC	9345	No detectado
19	<i>Atopobium parvulum</i>	KCOM	1530	No detectado
20	<i>Atopobium vaginae</i>	KCTC	15240	No detectado
21	<i>Bacteroides caccae</i>	ATCC	43185	No detectado
22	<i>Bacteroides fragilis</i>	KCTC	5013	No detectado
23	<i>Bacteroides ovatus</i>	KCTC	5827	No detectado
24	<i>Bacteroides vulgatus</i>	ATCC	8482	No detectado

N.º	Organismo	Origen	N.º cepa aislada	Resultado †
58	<i>Haemophilus influenza</i>	KCCM	42099	No detectado
59	<i>Helicobacter pylori</i>	ZMC	804383	No detectado
60	Hepatitis A virus (HAV)	ATCC	VR-1541	No detectado
61	Hepatitis B virus (HBV)	ATCC	VR-3232SD	No detectado
62	Hepatitis C virus (HCV)	ATCC	VR-3233SD	No detectado
63	Human herpesvirus 1	ATCC	VR-260	No detectado
64	Human herpesvirus 2	ATCC	VR-734	No detectado
65	Human herpesvirus 3	ATCC	VR-1367	No detectado
66	Human Papilloma Virus 16	KCLB	30035	No detectado
67	Human Papilloma Virus 16	KCLB	21550	No detectado
68	Human Papilloma Virus 18	KCLB	10002	No detectado
69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC	BAA-1705	No detectado
70	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	KCTC	3140	No detectado
71	<i>Lactobacillus amylovorus</i>	KCTC	3179	No detectado
72	<i>Lactobacillus brevis</i>	KCTC	3498	No detectado
73	<i>Lactobacillus casei</i>	KCTC	3260	No detectado
74	<i>Lactobacillus crispatus</i>	KCTC	5054	No detectado
75	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	KCTC	13730	No detectado
76	<i>Lactobacillus fermentum</i>	KCTC	3112	No detectado
77	<i>Lactobacillus gallinarum</i>	KCTC	5048	No detectado
78	<i>Lactobacillus gasseri</i>	KCTC	3163	No detectado
79	<i>Lactobacillus helveticus</i>	KCTC	15060	No detectado
80	<i>Lactobacillus iners</i>	CCARM	123	No detectado
81	<i>Lactobacillus intestinalis</i>	KCTC	5052	No detectado
82	<i>Lactobacillus jensenii</i>	KCTC	5194	No detectado
83	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	KCTC	3801	No detectado
84	<i>Lactobacillus kefiranoferiens</i>	KCTC	5075	No detectado
85	<i>Lactobacillus oris</i>	KCCM	40993	No detectado
86	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	KCTC	3503	No detectado
87	<i>Lactobacillus pentosus</i>	KCTC	3120	No detectado
88	<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC	700934	No detectado
89	<i>Lactobacillus reuteri</i>	KCTC	3679	No detectado
90	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	KCCM	32405	No detectado

N.º	Organismo	Origen	N.º cepa aislada	Resultado †
91	<i>Lactobacillus salivarius</i>	KCTC	3600	No detectado
92	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	KACC	12431	No detectado
93	<i>Lactobacillus ultunensis</i>	KCTC	5857	No detectado
94	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	KCTC	3515	No detectado
95	<i>Mobiluncus curtisii</i>	ATCC	35241	No detectado
96	<i>Mobiluncus mulieris</i>	ATCC	35243	No detectado
97	<i>Moraxella catarrhalis</i>	KCCM	42706	No detectado
98	<i>Mycoplasma arginini</i>	ATCC	23838	No detectado
99	<i>Mycoplasma felis</i> Cole et al.	ATCC	23391	No detectado
100	<i>Mycoplasma genitalium</i>	ATCC	49895	No detectado
101	<i>Mycoplasma hominis</i>	ZMC	804011	No detectado
102	<i>Mycoplasma iowae</i> Jordan et al.	ATCC	33552	No detectado
103	<i>Mycoplasma leonicaptivi</i> Hill	ATCC	49890	No detectado
104	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATCC	15531	No detectado
105	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	ATCC	19612	No detectado
106	<i>Mycoplasma spumans</i>	ATCC	19526	No detectado
107	<i>Neisseria cinerea</i>	ATCC	14685	No detectado
108	<i>Neisseria elongata</i>	ZMC	801510	No detectado
109	<i>Neisseria flavescens</i>	ATCC	13120	No detectado
110	<i>Neisseria lactamica</i>	ZMC	801752	No detectado
111	<i>Neisseria lactamica</i>	Saehyun-tech	0405L	No detectado
112	<i>Neisseria lactamica</i>	Saehyun-tech	0646L	No detectado
113	<i>Neisseria meningitidis</i>	KCCM	41562	No detectado
114	<i>Neisseria meningitidis</i>	Saehyun-tech	0453L	No detectado
115	<i>Neisseria meningitidis</i>	Saehyun-tech	0454L	No detectado
116	<i>Neisseria meningitidis</i>	Saehyun-tech	0404L	No detectado
117	<i>Neisseria mucosa</i>	ATCC	19696	No detectado
118	<i>Neisseria mucosa</i>	Saehyun-tech	0131L	No detectado
119	<i>Neisseria perflava</i>	ATCC	14799D-5	No detectado
120	<i>Neisseria polysaccharea</i>	ZMC	804030	No detectado
121	<i>Neisseria sicca</i>	ZMC	801754	No detectado
122	<i>Neisseria sicca</i>	Saehyun-tech	0464L	No detectado
123	<i>Neisseria sicca</i>	Saehyun-tech	0406L	No detectado

N.º	Organismo	Origen	N.º cepa aislada	Resultado †
124	<i>Neisseria subflava</i>	ZMC	804298	No detectado
125	Norovirus GII 17	ZMC	810087	No detectado
126	<i>Peptostreptococcus micros</i>	KCTC	15021	No detectado
127	<i>Prevotella bivia</i>	KCTC	5454	No detectado
128	<i>Prevotella buccalis</i>	KCTC	5496	No detectado
129	<i>Prevotella disiens</i>	KCTC	5499	No detectado
130	<i>Prevotella intermedia</i>	KCTC	5692	No detectado
131	<i>Prevotella melaninogenica</i>	KCTC	5457	No detectado
132	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC	12453	No detectado
133	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KCOM	1182	No detectado
134	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	KCCM	50511	No detectado
135	<i>Salmonella enteritidis</i>	CCARM	8570	No detectado
136	<i>Salmonella typhimurium</i>	CCARM	270	No detectado
137	<i>Serratia marcescens</i>	KCTC	2801	No detectado
138	<i>Staphylococcus aureus</i>	KCOM	1335	No detectado
139	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC	12228	No detectado
140	<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC	BAA-611D-5	No detectado
141	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC	BAA-255D	No detectado
142	<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC	19615	No detectado
143	<i>Treponema pallidum</i>	ATCC	BAA-2642SD	No detectado
144	<i>Trichomonas vaginalis</i>	ZMC	801805	No detectado
145	<i>Trichomonas tenax</i>	ATCC	30207	No detectado
146	<i>Ureaplasma parvum</i>	ATCC	700970	No detectado
147	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	ATCC	33699	No detectado
148	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	KCTC	2471	No detectado

† Para demostrar la disponibilidad de los resultados, el experimento se repitió tres veces.

1) Resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* a los medicamentos identificada mediante el método de secuenciación de PCR/Sanger usado internamente.

2) *Neisseria gonorrhoeae* WHO U (Suecia, 2011) poseía la mutación C2611T en el gen rRNA 23S.

3) *Neisseria gonorrhoeae* WHO V (Suecia, 2012) poseía la mutación A2059G en el gen rRNA 23S y la mutación S91F en el gen *gyrA*.

4) *Neisseria gonorrhoeae* WHO Y (F89, Francia, 2010) poseía la mutación S91F en el gen *gyrA*.

※ ATCC: American Type Culture Collection

ZMC: ZeptoMetrix Corporation
 CCARM : Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microbes
 KACC : Korean Agricultural Culture Collection
 KCTC: Korean Collection for Type Culture
 KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms
 KCLB: Korean Cell Line Bank
 KCOM : Korea Collection for Oral Microbiology
 NCTC : National Collection of Type Cultures
 Advanced: Advanced Biotechnologies Inc.
 NIBSC : National Institute for Biological Standards and Control
 Vircell
 Saehyun-tech


2. Sensibilidad

La sensibilidad se define como la concentración más baja de organismo que se puede detectar de manera coherente ($\geq 95\%$ de resultados positivos entre todas las muestras analizadas). La sensibilidad de Allplex™ NG & DR Assay se ha estimado mediante un análisis de probit con diluciones en serie de organismos estándar cuantificados y DNA sintéticos. Además, la sensibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* se ha determinado con ácidos nucleicos extraídos y cuantificados como copias genómicas/reacción. El límite de detección declarado de los objetivos de Allplex™ NG & DR Assay se muestra en la tabla siguiente.

Analito	Organismo estándar o DNAs sintéticos		DNA genómico
	Origen	Límite de detección	Límite de detección (copias genómicas/reacción)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ZeptoMetrix 0801482	2,10 x 10 ¹ CFU/mL	20
A2059G	DNA sintético	3,57 x 10 ¹ copias/rxn	-
C2611T		1,33 x 10 ² copias/rxn	-
S91F		6,07 x 10 ¹ copias/rxn	-

3. Reproducibilidad

Las pruebas de reproducibilidad de 12 analitos simulados se prepararon con muestras muy negativas (0,1X LoD), débilmente positivas (1X LoD) y moderadamente positivas (3X LoD) en tres centros diferentes. En cada centro de análisis se realizaron pruebas durante cinco días, con dos ejecuciones al día a cargo de dos operadores distintos y tres análisis de cada objetivo. Se analizó con un único lote de Allplex™ NG & DR Assay en tres centros y con tres lotes en otro centro.


 Eduardo Omar Miguez
 Director Técnico
 M.N. 17503


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APDOERADA
 Biosystems S.A.

Se observaron las tasas de positivos de cada analito para el estudio de reproducibilidad: 100,00% para muestras moderadamente positivas, 100,00% para muestras débilmente positivas y $\geq 13,33\%$ para muestras muy negativas.

La reproducibilidad de Allplex™ NG & DR Assay se evaluó entre diferentes centros, lotes de producto y experimentadores. Los resultados fueron acordes a los criterios, lo que confirma la reproducibilidad de Allplex™ NG & DR Assay.

4. Sustancias interferentes

Esta prueba se realizó con 15 sustancias interferentes para confirmar el rendimiento de Allplex™ NG & DR Assay en presencia de posibles sustancias interferentes. No se observó efecto alguno en el resultado al añadir las sustancias: ni detección no específica ni inhibición de la amplificación del objetivo. De acuerdo con la prueba realizada, ninguna de las 15 sustancias interferentes afecta a los resultados de Allplex™ NG & DR Assay.

N.º	Sustancias interferentes	Concentración de prueba
1	Metronidazole	701 $\mu\text{mol/L}$
2	Amoxicillin	206 $\mu\text{mol/L}$
3	Bilirubin	257 $\mu\text{mol/L}$
4	Hemoglobin (humana)	200 g/L
5	Progesterone	20 ng/mL
6	Beta Estradiol	4,41 nmol/L
7	Acetylsalicylic Acid (aspirina)	3,62 mmol/L
8	Glucose	12,2 mmol/L
9	Albumin (de suero humano)	52 g/L
10	Mucin	3 mg/mL
11	Supositorios/tratamiento hemorroidal	5% w/v
12	Heces	1% w/v
13	Antitusivo	5% v/v
14	Pasta de dientes	5% v/v
15	Enjuague bucal	5% v/v

5. Resultados clínicos

En esta actuación clínica se incluyeron un total de 482 muestras primarias (293 muestras clínicas y 189 muestras artificiales). Los resultados clínicos de Allplex™ NG & DR Assay se compararon con los resultados de ensayos de referencia, ensayos real-time PCR con marca CE para detectar NG y secuenciación de Sanger. El resultado ha mostrado más del 95% de porcentaje de concordancia positivo (PPA) y el 95% de porcentaje de concordancia negativo (NPA). Por lo tanto, se confirma que la calidad de Allplex™ NG & DR Assay es válida. Los resultados se resumen en la tabla.

Grupo de estudio 1: muestras primarias clínicas de NG y S91F


(1) Hisopo genital (n = 29)

NG		Comparador aprobado por CE-IVD		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	19	0	19
	Negativo	0	10	10
	Total	19	10	29

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 82,35% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 69,15% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 88,06% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

S91F		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	18	0	18
	Negativo	0	11	11
	Total	18	11	29

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 81,47% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 71,51% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 88,06% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)


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


 Dra. MARTINA VILA PEREZ
 APÉNDICE
 BioSystems S.A.

(2) Orina (n = 56)

NG		Comparador aprobado por CE-IVD		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	32	0	32
	Negativo	0	24	24
	Total	32	24	56

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 89,11% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 83,75% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 93,62% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

S91F		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	23	0	23
	Negativo	0	33	33
	Total	23	33	56


- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 85,18% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 89,42% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 93,62% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

(3) Hisopo anorrectal (n = 62)

NG		Comparador aprobado por CE-IVD		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	41	0	41
	Negativo	1*	20	21
	Total	42	20	62

* 1 muestra discordante (muestra n.º A51) se confirmó como negativa con análisis de secuenciación.

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 97,62% (95% CI: 87,43% a 99,94%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 98,39% (95% CI: 91,34% a 99,96%)
- Valor kappa: 0,964 (95% CI: 0,893 a 1,000)


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


 Dra. MARTINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

S91F		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	33	0	33
	Negativo	0	29	29
	Total	33	29	62

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 89,42% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 88,06% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,22% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

(4) Hisopo orofaríngeo (garganta) (n = 126)

● Centro clínico 1

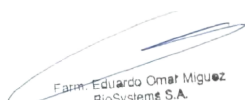
NG		Comparador aprobado por CE-IVD		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	14	0	14
	Negativo	0	20	20
	Total	14	20	34

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 76,84% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 89,72% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

● Centro clínico 2

NG		Comparador aprobado por CE-IVD		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	44	0	44
	Negativo	0	48	48
	Total	44	48	92

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 91,96% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 92,60% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 96,07% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)


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


 Dra. MARTINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

S91F		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	51	0	51
	Negativo	0	75	75
	Total	51	75	126

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 93,02% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 95,20% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 97,11% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

Grupo de estudio 2: muestras primarias artificiales de rRNA 23S A2059G y rRNA 23S C2611T

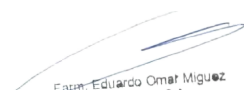
(1) Hisopo genital (n = 49)

A2059G		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	20	0	20
	Negativo	0	29	29
	Total	20	29	49

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 88,06% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 92,75% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

C2611T		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	19	0	19
	Negativo	0	30	30
	Total	19	30	49

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 82,35% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 88,43% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 92,75% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)


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


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

(2) Orina (n = 54)

A2059G		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	20	0	20
	Negativo	0	34	34
	Total	20	34	54

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 89,72% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 93,40% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)


C2611T		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	10	0	10
	Negativo	0	44	44
	Total	10	44	54

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 69,15% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 91,96% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 93,40% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

(3) Hisopo anorrectal (n = 60)

A2059G		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	20	0	20
	Negativo	0	40	40
	Total	20	40	60

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 91,19% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,04% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)



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



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

C2611T		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	20	0	20
	Negativo	0	40	40
	Total	20	40	60

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 91,19% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,04% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)


(4) Hisopo orofaríngeo (garganta) (n = 60)

A2059G		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	20	0	20
	Negativo	0	40	40
	Total	20	40	60

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 91,19% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,04% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

C2611T		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	20	0	20
	Negativo	0	40	40
	Total	20	40	60

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 91,19% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,04% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)


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


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

Grupo de estudio 3: citología líquida (LBC)

LBC (n = 60)

NG		Comparador aprobado por CE-IVD		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	40	0	40
	Negativo	0	20	20
	Total	40	20	60

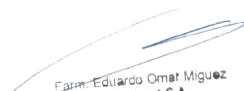
- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 91,19% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,04% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

S91F		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	40	0	40
	Negativo	0	20	20
	Total	40	20	60

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 91,19% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,04% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)

A2059G		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	20	0	20
	Negativo	0	40	40
	Total	20	40	60

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 91,19% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,04% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)



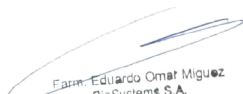
Firm: Eduardo Omar Miguez
 BioSystems S.A.
 Director Técnico
 M.N. 17503



Dra. MARINA VILA PEREZ
 APODERADA
 BioSystems S.A.

C2611T		Análisis de secuenciación		
		Positivo	Negativo	Total
Allplex™ NG & DR Assay	Positivo	20	0	20
	Negativo	0	40	40
	Total	20	40	60

- PPA (Porcentaje de acuerdo positivo): 100,00% (95% CI: 83,16% a 100,00%)
- NPA (Porcentaje de acuerdo negativo): 100,00% (95% CI: 91,19% a 100,00%)
- OPA (Porcentaje de acuerdo general): 100,00% (95% CI: 94,04% a 100,00%)
- Valor kappa: 1,000 (95% CI: 1,000 a 1,000)



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



Dra. MARINA VILA PEREZ
APCERADA
BioSystems S.A.

REFERENCIAS


















1. D. H. Lee. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] Seegene Bulletin (2012) 1: 5-10
2. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] Seegene Bulletin. (2012) 1: 1-4.
3. M. G. Aguilera-Arreola, A. M. González-Cardel, A. Méndez Tenorio, E. Curiel-Quesada and G. Castro-Escarpulli [Highly specific and efficient primers for in-house multiplex PCR detection of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum.] BMC Res Notes. (2014) 7:433
4. M. Unemo, R. Ballard, C. Ison, D. Lewis, F. Ndowa, and R. Peeling. [Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus] World Health Organization (2013)
5. J. R. Papp, J. Schachter, C. A. Gaydos, B. V. Pol [Recommendations for the Laboratory-Based Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae _ 2014] MMWR.(2014) 63(RR02);1-19
6. S. J. Lee, D. C. Park, D. S. Lee, H. S. Choe, and Y. H. Cho. [Evaluation of Seeplex® STD6 ACE Detection kit for the diagnosis of six bacterial sexually transmitted infection.] J Infect Chemother. (2012) 18(4):494-500
7. Z. Samra, S. Rosenberg, L. Madar-Shapiro. [Direct simultaneous detection of 6 sexually transmitted pathogens from clinical specimens by multiplex polymerase chain reaction and auto-capillary electrophoresis.] Diagn Microbiol Infect Dis.(2011) 70(1):17-21
8. A. Al-Asoufi, A. Khlaif, A. A. Tarawneh, K. Alsharafa, M. Al-Limoun, and K. Khleifat. [Bacterial Quality of Urinary Tract Infections in Diabetic and Non Diabetics of the Population of Ma'an Province, Jordan.] Pak. J. Biol. Sci.(2017) 20(4):179-188
9. B. Cao, S. Wang, Z. Tian, P. Hu, L. Feng, and L Wang. [DNA Microarray Characterization of Pathogens Associated with Sexually Transmitted Diseases.] PLOS ONE(2015)10(7):e0133927
10. K. Adachi, J. Xu, N. Yeganeh, M. Camarca, M. G. Morgado, DH. Watts, et al. [Combined evaluation of sexually transmitted infection in HIV-infected pregnant women and infant HIV transmission.] PLOS ONE(2018)13(1):e0189851
11. Teodora Wi, Monica M. Lahra, Francis Ndowa, Manju Bala, Jo-Anne R. Dillon, Pilar Ramon-Pardo, Sergey R. Eremin, Gail Bolan, and Magnus Unemo [Antimicrobial resistance in Neisseria gonorrhoeae: Global surveillance and a call for international collaborative action] PLOS Medicine (2017) 14(7): e1002344
12. Kim M Gernert, Sandra Seby, Matthew W Schmerer, Jesse C Thomas IV, Cau D Pham, Sancta St Cyr, Karen Schlanger, Hillard Weinstock, William M Shafer, Brian H Raphael, Ellen N Kersh, and the Antimicrobial-Resistant Neisseria gonorrhoeae Working Group [Azithromycin susceptibility of Neisseria gonorrhoeae in the USA in 2017: a genomic analysis of surveillance data] Lancet Microbe (2020) 1: e154–64
13. Beata Młynarczyk-Bonikowska, Anna Majewska, Magdalena Malejczyk, Grażyna Młynarczyk and Sławomir Majewski [Multiresistant Neisseria gonorrhoeae: a new threat in second decade of the XXI century] Medical Microbiology and Immunology (2020) 209:95–108


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


Dra. MARINA VILA PEREZ
ABONERADA
BioSystems S.A.

CLAVE DE LOS SÍMBOLOS

Clave de los símbolos usados en el manual y las etiquetas

Símbolo	Explicación
	Dispositivo sanitario de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Número de catálogo
	Fecha de caducidad
	Límite máximo de temperatura
	Mezcla de oligonucleótidos para amplificación y detección
	Mezcla de detección o PCR Master Mix
	RNase-free Water
	Control positivo (PC)
	Control interno (IC)
	Consultar instrucciones de uso
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Precaución
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	Identificador único del dispositivo

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



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



Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

N.º de cat.	Producto	Tamaño
Serie Allplex™		
SD10368Z	Allplex™ NG & DR Assay	25 rxns
SD10367X	Allplex™ NG & DR Assay	100 rxns
SD10317Z	Allplex™ CT/NG/MG/TV Assay	25 rxn
SD9400Y	Allplex™ CT/NG/MG/TV Assay	50 rxns
SD9400X	Allplex™ CT/NG/MG/TV Assay	100 rxns
SD10245Z	Allplex™ STI Essential Assay	25 rxn
SD9801Y	Allplex™ STI Essential Assay	50 rxns
SD9801X	Allplex™ STI Essential Assay	100 rxns
SD10318Z	Allplex™ STI Essential Assay Q(MH,UU)	25 rxn
SD10201Y	Allplex™ STI Essential Assay Q(MH,UU)	50 rxns
SD10202X	Allplex™ STI Essential Assay Q(MH,UU)	100 rxns
SD10177Z	Allplex™ Genital ulcer Assay	25 rxns
SD9802Y	Allplex™ Genital ulcer Assay	50 rxns
SD9802X	Allplex™ Genital ulcer Assay	100 rxns
SD10178Z	Allplex™ Candidiasis Assay	25 rxns
SD9803Y	Allplex™ Candidiasis Assay	50 rxns
SD9803X	Allplex™ Candidiasis Assay	100 rxns
SD9804X	Allplex™ Bacterial Vaginosis Assay	100 rxns
SD10159X	Allplex™ Bacterial Vaginosis plus Assay	100 rxns
SD10319Z	Allplex™ MG & AziR Assay	25 rxns
SD10169Y	Allplex™ MG & AziR Assay	50 rxns
SD10170X	Allplex™ MG & AziR Assay	100 rxns
SD10232Z	Allplex™ MG & MoxiR Assay	25 rxns
SD10233Y	Allplex™ MG & MoxiR Assay	50 rxns
SD10234X	Allplex™ MG & MoxiR Assay	100 rxns
Serie Anyplex™		
SD7500X	Anyplex™ II STI-5 Detection	100 rxns
SD7500Y	Anyplex™ II STI-5 Detection	50 rxns
SD10323Z	Anyplex™ II STI-7e Detection	25 rxns

SD7701X	Anyplex™ II STI-7e Detection	100 rxns
SD7701Y	Anyplex™ II STI-7e Detection	50 rxns
SD7700X	Anyplex™ II STI-7 Detection (V1.1)	100 rxns
SD7700Y	Anyplex™ II STI-7 Detection (V1.1)	50 rxns
SD7200Y	Anyplex™ CT/NG Real-time Detection (V3.1)	50 rxns*


* En el caso del sistema SmartCycler® II, el número rxn se reduce de 50 rxn a 40 rxn. (50 rxns → 40 rxns)

Producto accesorio

SG1701	Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	50 preps
--------	--	----------

Sistemas de extracción automatizada

65415-02	Microlab NIMBUS IVD	EA
173000-075	Microlab STARlet IVD	EA
65415-03	Seegene NIMBUS	EA
67930-03	Seegene STARlet	EA
SG71101	Seegene STARlet 96MPH	EA
744300.4.UC384	STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	384T / 1box
EX00013C	STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit	384T / 1box
EX00032P	STARMag™ S96H Kit	48T / 1box
EX00033P	STARMag™ S96H Kit	480T / 1box
EX00034P	STARMag™ S96H Kit	96T / 1box
EX00035P	STARMag™ S96H Kit	960T / 1box
EX00036P	STARMag™ S96H N Kit	480T / 1box
EX00037P	STARMag™ S96H N Kit	960T / 1box
SG71100	SEEPREP32	EA
EX00009P	STARMag 96 ProPrep (Plate Type)	96T / 1box
EX00009T	STARMag 96 ProPrep (Tube Type)	96T / 1box
EX00017P	STARMag 96 ProPrep C (Plate Type)	96T / 1box
EX00017T	STARMag 96 ProPrep C (Tube Type)	96T / 1box
M9600	Maelstrom™ 9600	EA
EX00029P	STARMag™ M96 Kit	96T / 1box
EX00030P	STARMag™ M96 Kit	960T / 1box
SG72100	AIOS	EA


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


 Dra. MARINA VILA PEREZ
 APDERADA
 Biosystems S.A.

ROTULOS "Allplex™ NG & DR Assay"

Rotulo Externo: Allplex™ NG & DR Assay (SD10368Z) x 25 determinaciones:



Information of components included in kit
1 vial of NGDR MOM
1 vial of SEMX1
1 vial of NGDR PC
1 vial of ASTI IC (2)
1 vial of RNase-free Water



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

Seegene Inc.

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

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

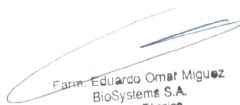
Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN17503

Producto para Diagnostico uso "In Vitro"

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

Autorizado por ANMAT:

PM-626-245


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


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

1) NGDR MOM



2) SEMX1



3) NGDR PC



4) ASTI IC(2)



5) RNase-free Water



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

Firma: Dra. MARINA VILA PEREZ
APDERADA
BioSystems S.A.

Rotulo Externo: Allplex™ NG & DR Assay (SD10367X) x 100 determinaciones:



Information of components included in kit

- 1 vial of NGDR MOM
- 1 vial of SEMX1
- 1 vial of NGDR PC
- 1 vial of ASTI IC (2)
- 1 vial of RNase-free Water



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

Importado por:

BioSystems S.A.

Av. Dorrego 673 (C1414CKB)

TEL: (54-11) 4854-7775

Director Técnico: Eduardo Omar Miguez, MN17503

Producto para Diagnostico uso "In Vitro"

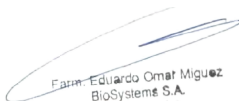
"USO PROFECIONAL EXCLUSIVO-VENTA A LABORATORIOS DE ANALISIS CLINICOS"

Autorizado por ANMAT:

PM-626-245

Seegene Inc.

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


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


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.

Rótulos Internos

1) NGDR MOM



2) SEMX1



3) NGDR PC

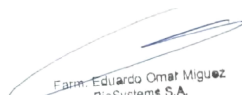


4) ASTI IC(2)



5) RNase-free Water




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


Dra. MARINA VILA PEREZ
APODERADA
BioSystems S.A.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Año de la Grandeza Argentina

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: Rotulos e instrucciones de uso -BIOSYSTEMS S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 71 pagina/s.