



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-003744-23-1

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-003744-23-1 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Analytical Technologies S.A. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: Logix Smart ZDC (Zika Dengue Chikungunya).

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

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

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

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

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

Por ello;

LA ADMINISTRADORA NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: Logix Smart ZDC (Zika Dengue Chikungunya), de acuerdo con lo solicitado por Analytical Technologies S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2024-35614295-APN-DVPCYAR#ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 2357-1 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Logix Smart ZDC (Zika Dengue Chikungunya)

Marca comercial: Co-Diagnostics

Modelos:
ZDC-K-001

Indicación/es de uso:

El kit Logix Smart™ ZDC es una prueba diagnóstica multiplex in vitro, basado en tecnología de reacción en cadena de polimerasa (PCR, del inglés, polymerase chain reaction), para la detección cualitativa del ácido ribonucleico específico del virus del Zika (ZIKV), el virus del dengue tipos 1-4 (DENV), y el virus del chikungunya (CHIKV), específicamente en el suero o plasma, orina o líquido cefalorraquídeo (LCR).

Forma de presentación: Kits x 100 reacciones.

Contenido:

Cada kit Logix Smart ZDC (Zika Denge Chikungunya) consta de los siguientes componentes:

- Mezcla maestra lista para usar, con control interno para identificar una posible inhibición de la Reacción de Cadena de Polimerasa Cuantitativa (qPCR, por sus siglas en inglés, Quantitative Polymerase Chain Reaction), confirmar la integridad de los reactivos y verificar la calidad de la extracción de la muestra.
- Control Positivo (PC), para verificar el rendimiento de la mezcla maestra.
- Agua libre de nucleasas como control negativo, para verificar que la mezcla maestra no esté contaminada.

Período de vida útil y condición de conservación: 1 año almacenado entre los -40 °C y -16 °C.

Nombre del fabricante:

Co-Diagnostics, Inc.

Lugar de elaboración:

2401 South Foothill Dr., Suite D, Salt Lake City, UT 84109, EEUU.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

N° 1-0047-3110-003744-23-1

N° Identificadorio Trámite: 49777

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.04.29 15:04:11 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRÓNICA - GDE
Date: 2024.04.29 15:04:13 -03:00

PROYECTO DE RÓTULOS

Rótulo Externo

Logix Smart™ ZDC (Zika Dengue Chikungunya)

Importado por:

ANALYTICAL TECHNOLOGIES SA

J. F. Kennedy 2840 Piso 10. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Director Técnico: **Farm, Alida Lucía Alvarez. MN 6998.**

Fabricado por:

Co-Diagnostics, Inc.

2401 South Foothill Dr., Suite D, Salt Lake City, UT 84109, EEUU.

Marca: **CO-DIAGNOSTIC.**

REF

ZDC-K-001



FF/MM

LOT

XXX

IVD



100

Autorizado por la ANMAT - PM 2357-1

Todos los componentes deben almacenarse entre los -40 °C y -16 °C para prevenir degradación de los reactivos.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS: VER INSTRUCCIONES DE USO.

Solamente para uso diagnóstico in-vitro

**Uso Profesional – Venta Exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
o Instituciones Sanitarias habilitadas para tal fin**

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Rótulo del fabricante:

Logix Smart ZDC Test Kit		
COMP	NUM	x CONT
Master Mix	4 x	500 µl
Positive Control	4 x	500 µl
Nuclease-Free Water	4 x	500 µl
		IVD CE
		Σ 100
YYYY-MM-DD REF ZDC-K-001 LOT YYMMDD-K-XXX		

Logix Smart ZDC-001 Test Kit	
	Co-Diagnostics, Inc. 2401 S. Foothill Drive Ste. D Salt Lake City, UT 84109 USA Phone: +1 (801) 438-1036 Email: info@codiagnostics.com Website: www.codiagnostics.com
	mdi Europa GmbH Langenhagener Str. 71 D-30855 Hannover-Langenhagen Germany Phone: +49 511 39 08 95 30 Email: info@mdi-europa.com Website: www.mdi-europa.com
	  IVD CE



Bioq Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

MANUAL DE INSTRUCCIONES

1. Nombre comercial del Producto

Logix Smart™ Logix Smart™ ZDC (Zika Denge Chikungunya) (Ref.: ZDC-K-001).

2. Descripción de la finalidad de uso del producto

El kit Logix Smart™ ZDC es una prueba diagnóstica multiplex in vitro, basado en tecnología de reacción en cadena de polimerasa (PCR, del inglés, polymerase chain reaction), para la detección cualitativa del ácido ribonucleico específico del virus del Zika (ZIKV), el virus del dengue tipos 1-4 (DENV), y el virus del chikungunya (CHIKV) específicamente en el suero o plasma, orina o líquido cefalorraquídeo (LCR).

3. Descripción del principio de acción del Kit

Inicie la prueba al elegir el tipo de muestra, seguido por recolectar la muestra usando los procedimientos y condiciones apropiadas. Identifique la muestra al seguir el sistema de calidad del laboratorio y las regulaciones actuales. Almacene la muestra apropiadamente hasta que sea analizada en las mismas instalaciones o enviadas al laboratorio asignado.

El kit de prueba Logix Smart™ es una prueba PCR de transcripción reversa en tiempo real multiplexada de un solo paso que se puede dividir en las siguientes tres etapas:

- Preparación de la muestra
- Transcripción inversa
- PCR con monitoreo en tiempo real

La prueba también incluye un IPC que actúa como un control de extracción para confirmar el rendimiento de la extracción.

La preparación de la muestra para PCR requiere que las muestras se procesen para separar las células y los virus para exponer el material genético. Para este proceso, se utiliza un sistema de extracción disponible comercialmente. En este proceso, los ácidos nucleicos se aíslan y purifican de los fluidos del tracto respiratorio inferior (por ejemplo, lavado bronco alveolar, esputo, aspirado traqueal) o de los fluidos del tracto respiratorio



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

superior (por ejemplo, hisopos con muestras nasofaríngeos, nasales anteriores y orofaríngeos).

El ácido nucleico purificado luego se coloca en placas con la mezcla maestra (MM, por el inglés, Master Mix), 5 µL de cada uno. El MM está premezclado y contiene los componentes necesarios para realizar tanto la transcripción inversa y el PCR. Esto elimina la necesidad de que la MM sea preparada por adelantado por el usuario.

Las reacciones en las placas luego serán puestas en el termociclador usando las siguientes condiciones de ciclado:

- 15 min a 45 °C
- 2 min a 95 °C
- 50 ciclos x [3s a 95 °C, 32s a 55 °C].

El paso de 15 minutos a 45 °C es el paso de transcripción inversa, donde el ácido desoxirribonucleico complementario (cADN) es creado del formato de ARN.

El paso de 2 minutos a 95 °C es para inactivar la transcriptasa inversa y actúa como el paso de desnaturalización inicial para el PCR, el cual es luego seguido por el ciclado para el PCR.

Durante el PCR, el FAM™ rotulado como CoPrimer hacia adelante actúa tanto como un iniciador de frente y como sonda. Durante la fase de hibridación/extensión del PCR, la actividad de nucleasas 5' de la polimerasa Taq degrada la porción de los CoPrimers que ha sido hibridada a la secuencia objetivo, causando la separación espacial entre el fluoróforo y el desactivador, generando una señal de fluorescencia. Con cada ciclo, las moléculas de fluoróforo adicionales se separan de sus sondas respectivas, aumentando la intensidad de fluorescencia.

La intensidad de fluorescencia es monitoreada al final de cada ciclo por el termociclador en tiempo real

4. Componentes del Kit

Cada kit Logix Smart ZDC (Zika Denge Chikungunya) consta de los siguientes componentes:



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- Mezcla maestra lista para usar, con control interno para identificar una posible inhibición de la Reacción de Cadena de Polimerasa Cuantitativa (qPCR, por sus siglas en inglés, Quantitative Polymerase Chain Reaction), confirmar la integridad de los reactivos y verificar la calidad de la extracción de la muestra.
- Control Positivo (PC), para verificar el rendimiento de la mezcla maestra.
- Agua libre de nucleasas como control negativo, para verificar que la mezcla maestra no esté contaminada.

Color de la tapa	Componente	Símbolo	Descripción	Cantidad
Café	Mezcla Maestra Logix Smart ZDC	MM	Mezcla propietaria de CoPrimers™ y reactivos PCR	1 x 500µL (100 reacciones)
Rojo	Control Positivo Logix Smart ZDC	PC	Mezcla propietaria de formatos objetivo	1 x 500µL (100 reacciones)
Transparente	Agua libre de nucleasa	NC	Agua libre de DNasas/RNasas	1 x 500µL (100 reacciones)

5. Consumibles, equipos y hardware necesarios

- Un instrumento PCR a tiempo real de 4 canales compatible con los fluoróforos usados en esta prueba.

Los instrumentos PCR de tiempo real han sido usados y probados con el producto, el termociclador CoDx Box (Bio Molecular Systems) y el Eco 48 (Cole-Parmer). De estos artículos, solo el termociclador CoDx Box (Bio Molecular Systems) ha sido validado con la versión actual del producto. Otros ejercicios de validación incluirán pruebas para más termocicladores, al igual que la creación de protocolos específicos para esos termocicladores.

- Un sistema o kit de extracción de ácido nucleico apropiado.
- Un mezclador de vórtice
- Un centrífugo con un rotor para tubos de reacción de 2 mL



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- Pipetas (ajustables)
- Puntas de pipetas con filtros (desechables)
- Guantes libres de polvo (desechables)
- Hielo
- Un gabinete de bioseguridad, idealmente unas instalaciones de Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2, del inglés, Biosafety Level 2)

6. Condiciones de almacenamiento y transporte

- El kit Logix Smart™ ZDC se envía en hielo seco y debe llegar congelado.
- Contacte a su distribuidor para asistencia si uno o más de los componentes no están congelados al llegar o se han comprometido durante el envío.
- Almacene todos los componentes inmediatamente al llegar entre los -40 °C y -16 °C para prevenir degradación de los reactivos.
- No use productos vencidos. La integridad de los componentes vencidos no puede ser garantizada.
- Siga los procedimientos de laboratorio internos para el control de calidad cuando se use este producto.
- Proteja la mezcla maestra (MM) de la luz.
- Si usted va estar usando los reactivos intermitentemente, congele los reactivos en múltiples alícuotas para asegurar que ocurran menos de 10 ciclos de congelamiento/descongelamiento. El descongelamiento y congelamiento excesivo de los componentes (específicamente la MM) puede afectar el desempeño de la prueba.
- Evite almacenar los componentes a temperaturas entre +2 °C y +8 °C por más de 4 horas.
- Si usted trabaja en un área propensa a cortes de energía, mantenga un generador de respaldo para su freezer al igual que un sistema de registro de datos de temperatura para asegurar que el producto permanezca congelado a temperaturas entre -40 °C y -16 °C.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- Deseche el producto en cumplimiento con las leyes y regulaciones regionales, nacionales y locales aplicables. Este producto no es un desperdicio biológico.
- Siempre siga los datos de estabilidad del producto recomendados más recientemente a medida que estén disponibles.

7. Precauciones generales

Los usuarios deben adherirse a los siguientes lineamientos:

- Limite el uso de este producto al personal instruido y entrenado en las técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos diagnósticos in vitro.
- Trate las muestras de los pacientes, como infecciosas y/o biopeligrosas. Use precauciones estándar.
- Use guantes protectores, una bata de laboratorio y protección para los ojos cuando manipule muestras de pacientes. Siempre use guantes cuando manipule los componentes del kit.
- Use siempre puntas de pipeta desechables libres de DNAsas/RNAsas con filtros.
- Use áreas de trabajo separadas para la preparación de muestras, la configuración de reacciones y las actividades de amplificación/detección. El flujo de trabajo en el laboratorio debe proceder en un flujo de trabajo unidireccional. Para evitar la contaminación, cámbiese los guantes cada vez que se mueva entre áreas.
- Almacene y extraiga los materiales positivos (especímenes, controles y amplicones) por separado de otros reactivos. Dedique suministros y equipos a áreas de trabajo separadas y no los mueva de un área a otra.
- Consulte las SDS apropiadas para un manejo seguro. Las SDS para el kit Logix Smart™ ZDC se proporciona con el envío. Si la SDS no se proporciona con el envío, las SDS se pueden obtener del sitio web de Co-Diagnostics en el vínculo: Hojas de Datos de Seguridad | Co-Diagnostics, Inc. (co-dx.com)
- No recolecte muestras para pruebas de PCR de ácidos nucleicos, en tubos de Heparina (tubo con tapa verde) o EDTA (con tapa morada), ya que estos



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

componentes son inhibidores de PCR bien conocidos. Es preferible recolectar sangre entera en los tubos separadores de suero.

- No abra los tubos/placas de reacción después de la amplificación.
- No use autoclave para tubos/placas de reacción después de la PCR, ya que esto no degradará el ácido nucleico amplificado y puede ser un riesgo de contaminación del área de laboratorio.
- No use componentes del kit que hayan pasado la fecha de expiración.
- Deseche los residuos de muestras y ensayos de acuerdo con las normas de seguridad locales.

8. Preparación de la muestra

La calidad de la extracción del ARN de las muestras es esencial para el rendimiento del kit Logix Smart™ ZDC. El protocolo de extracción debe realizarse siguiendo las instrucciones del fabricante o un protocolo validado internamente. El método de extracción validado con el kit Logix Smart™ ZDC y recomendado por Co-Diagnostics, Inc. es el Mini kit QIAamp® ARN Viral (QIAGEN) e incluye los siguientes productos:

- Cat No. 52904 para 50 extracciones
- Cat. No. 52906 para 250 extracciones

Los sistemas y kits alternativos de extracción de ácidos nucleicos también podrían ser apropiados. La idoneidad del procedimiento de extracción de ácidos nucleicos para su uso con el kit Logix Smart™ ZDC debe ser validada por el usuario.

Realice la extracción del ARN usando el Mini kit QIAamp® ARN Viral al seguir las instrucciones del fabricante usando 140 µL de la muestra y una elución modificada, con 60 µL de amortiguador AVE. Se recomienda fuertemente, antes de la elución de ácidos nucleicos, asegurarse de que se elimine todo el etanol.

Para los kits basados en columnas que incluyen lavado con amortiguadoras que contienen etanol, se recomienda un paso de centrifugación adicional (consulte el procedimiento de extracción) utilizando un nuevo tubo de recolección.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Manejo de muestras

El análisis de Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR, del inglés, Real Time Polymerase Chain reaction) en muestras clínicas de pacientes sospechosos o confirmados de estar infectados con ZIKV, DENV, o que deben realizarse en condiciones BSL-2 como se describe en el Manual de Bioseguridad de Laboratorio de la OMS, 3ª ed. Cualquier prueba para detectar la presencia de ZIKV, DENV o CHIKV debe realizarse en laboratorios adecuadamente equipados por personal capacitado en los procedimientos técnicos y de seguridad pertinentes. Deben seguirse en todas las circunstancias los lineamientos nacionales sobre seguridad de la biotecnología de laboratorio (Organización Mundial de la Salud, 2016).

Transporte de Muestras

El transporte de especímenes conocidos o que se cree que contienen los virus del ZIKV, DENV o CHIKV en hielo seco como una Sustancia Biológica de Categoría B, N3373. Siempre cumpla con las leyes internacionales como se describe en la Guía de la OMS sobre Regulaciones para el Transporte de Sustancias Infecciosas 2015-2016. (CDC, 2020). Transporte los especímenes congelados durante la noche con suficiente hielo para mantenerlas congeladas durante la duración del viaje si es necesario el transporte terrestre. Después de la recolección de la muestra y la transferencia al laboratorio clínico, la muestra recibirá una entrada en el sistema de laboratorio.

Almacenamiento de muestras

Es mejor mantener las muestras refrigeradas a una temperatura entre 2 °C y 8 °C y probarlas dentro de 48 horas. Si hay un retraso de más de 48 horas antes de analizar la sangre completa, el suero debe separarse y almacenarse por separado.

La OMS recomienda que todos los demás tipos de especímenes se mantengan a -20 °C durante un máximo de 7 días. Para el almacenamiento de más de 7 días, las muestras deben congelarse a -70 °C. (Organización Mundial de la Salud, 2016).



Biod. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

9. Descripción del proceso de análisis

La OMS recomienda registrar el nombre completo, la fecha de nacimiento, la información de contacto y al hora y fecha de recolección de las muestras de los pacientes.

Adicionalmente, la información siguiente también puede recolectarse:

- Los síntomas, el día que iniciaron, la duración de los síntomas, contacto con casos conocidos de ZIKV y tipo de contacto (por ejemplo, contacto sexual)
- Historial de viaje extensivo (fechas, lugares, duración de la visita, etc.).
- Historial de vacunación, especialmente cualquier vacuna de flavivirus, incluyendo la virus de la fiebre amarilla, virus de encefalitis japonés, y el virus DENV.

Preparación de muestras

La calidad de la extracción del ARN de las muestras es esencial para el rendimiento del kit Logix Smart™ ZDC. El protocolo de extracción debe realizarse siguiendo las instrucciones del fabricante o un protocolo validado internamente. El método de extracción validado con el kit Logix Smart™ ZDC y recomendado por Co-Diagnostics, Inc. es el Mini kit QIAamp® ARN Viral (QIAGEN) e incluye los siguientes productos:

- Cat No. 52904 para 50 extracciones
- Cat. No. 52906 para 250 extracciones

Los sistemas y kits alternativos de extracción de ácidos nucleicos también podrían ser apropiados. La idoneidad del procedimiento de extracción de ácidos nucleicos para su uso con el kit Logix Smart™ ZDC debe ser validada por el usuario.

Realice la extracción del ARN usando el Mini kit QIAamp® ARN Viral al seguir las instrucciones del fabricante usando 140 µL de la muestra y una elución modificada, con 60 µL de amortiguador AVE. Se recomienda fuertemente, antes de la elución de ácidos nucleicos, asegurarse de que se elimine todo el etanol.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Para los kits basados en columnas que incluyen lavado con amortiguadoras que contienen etanol, se recomienda un paso de centrifugación adicional (consulte el procedimiento de extracción) utilizando un nuevo tubo de recolección.

Preparación del Reactivo del Logix Smart™ ZDC

Realice estos pasos para preparar el reactivo:

- Limpie todas las superficies de trabajo con una solución fresca de lejía al 10% seguida de un alcohol de grado molecular u otro método equivalente de limpieza que desinfecte y degrade los ácidos nucleicos.
- Coloque en un vórtice todos los componentes del Logix Smart™ ZDC: el MM, PC, agua libre de nucleasas (usadas como NC), y todos los tubos de las muestras por 3 segundos.
- Gire brevemente la MM, PC, NC antes de usar para asegurar que los reactivos se mezclen apropiadamente y de asegurar la remoción de cualquier condensación o residuo de las tapas.
- Descongele todos los reactivos y muestras sobre hielo o un bloque frío antes de iniciar la preparación.

Preparación de la Reacción

Realice los pasos a continuación para preparar la reacción.

- Obtenga suficientes espacios o pozos de reacción para cada uno de los siguientes:
 - Uno por cada NC,
 - Uno por cada muestra que usted quiera probar, y
 - Uno (o más) por cada PC
- Coloque 5 µL de la MM en cada pozo recopilado.
- Coloque 5 µL del NC en los pozos apropiados (además de los 5 µL de MM ya colocados en cada pozos)

Nota: Asegure que al menos un control NC esté incluido en cada corrida y que permanezca suficiente espacio para al menos un PC.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- Haga el manejo de pipetas sobre hielo si es posible.
- Realice el manejo de pipetas del PC y preparación de muestra en un área separada o en momentos separados, del MM y del NC.
- Cambie las puntas de las pipetas entre las muestras y cambie las puntas de las pipetas después de colocar en pipetas cada componente.
- La pipeta del PC debe ser lo último de ser posible para prevenir eventos de contaminación.
- Coloque 5 µL de PC en cada pozo apropiado.
- Selle la placa de reacción con una película adhesiva óptica o selle cada tubo de reacción con su tapa apropiada.
- Coloque las placas o tubos en el instrumento RT-PCR en la orientación correcta e inicie la prueba.

10. Procedimiento de calibración

Preparación del instrumento PCR y Termociclador

Si está usando el CoDx Box de Co-Diagnostics Inc., contacte al Laboratorio al número (801) 438-1036 ext. 03 para la descarga del archivo formato. El archivo formato viene preprogramado con la configuración del instrumento PCR descrito en esta sección. Cuando no se usa el formato, o se usa otro dispositivo, use las configuraciones descritas a continuación para programar el instrumento PCR.

Para alcanzar el desempeño óptimo de la prueba, es importante asegurar que el instrumento es compatible con las condiciones delimitadas en la siguiente Tabla:

Definición de la configuración:

Artículo	Configuración
Volumen de la Reacción	10 µL
Referencia Pasiva	Ninguna



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Programar el instrumento de PCR con las condiciones de ciclo que se indican a continuación:

Artículo	Etapa	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Transcripción inversa	Activación	1	45 °C	15 min
Desnaturalización inicial	Sostener	1	95 °C	2 min
Amplificación	Ciclado	50	95 °C	3 segundos
			55 °C	32 segundos

Asegure que el instrumento PCR que se está usando es compatible con los fluoróforos a continuación. Algunos dispositivos pueden no tener las opciones para desactivación. Si usted necesita ayuda o tiene preguntas, contacte al Soporte Técnico de Co-Diagnostics Inc.

Objetivo	Nombre del detector	Comunicador	Supresor
ARN específico del ZIKV	ZIKV	FAM™	BHQ® - 1
ARN específico del DENV	DENV	CAL Fluor® Orange 560	BHQ® - 1
ARN específico del CHIKV	CHIKV	Quasar® 670	BHQ® - 2
ARN específico a la RNasaP (PC)	RNasaP	CAL Fluor® Red 610	BHQ® - 2

Al terminar la prueba, hay que asegurarse de guardar el archivo de la prueba.




 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

11. Descripción de cálculo y obtención de resultados de medición

Los estudios de verificación y validación realizados para el Logix Smart™ ZDC-K-001 fueron conducidos siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio para ensayos de Biología Molecular (Viana & Wallis, 2011). Si estas condiciones no se cumplieron, el desempeño mostrará mayor variabilidad debido a errores de usuario cuando se conduce el experimento.

Validez de las Pruebas Diagnósticas

Corrida de Prueba Diagnóstica Válida

- Verifique que tanto el PC y el NC pasen.
- Las condiciones de control delimitadas en la siguiente tabla deben cumplirse. Si los controles pasan, interprete los resultados de la muestra.

Condiciones de Control requeridos:

Tipo de control	Nombre del Control	Propósito del Control	ZIKV	DENV	CHIKV	Control Interno (RNasaP)
Control Positivo del ZDC (PC)	ZIKV (FAM™)	Verifica el desempeño de la mezcla maestra	+	+	+	+
	DENV (CF@560)					
	CHIKV (Q@670)					
	RNasaP(CF@610)					
<u>Control Sin Formato (NC)</u>	Mezcla Maestra + Agua	Verifica que los reactivos estén libres de contaminación	-	-	-	-

Corrida de Prueba Diagnóstica Inválida

Si alguno de los controles falla, la corrida es inválida. Documente la corrida e inicie la resolución de problemas.

Interpretación de los resultados

Una vez los controles hayan pasado, las muestras desconocidas pueden ser interpretadas en base a los siguientes tres posibles resultados:



BIOQ. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- Positivo
- Negativo
- Inválido

Un resultado positivo mostrará una curva de amplificación o un valor de umbral del ciclo para el ZIKV, DENV o CHIKV en o antes de los 45 ciclos. Las curvas de amplificación mayores a 45 ciclos para el ZDC están en una zona de incertidumbre. La amplificación de la RNasaP (IPC) muestra que la extracción fue exitosa.

Un resultado negativo no mostrará ninguna amplificación para el ZIKV, DENV o CHIKV; sin embargo, ocasionalmente pueden ocurrir amplificaciones mayores a los 45 ciclos. Cualquier curva de amplificación mayor a 45 ciclos está en una zona de incertidumbre para el ZDC está fuera de los límites de detección para la prueba.

La ausencia de una curva para el ZDC indica un resultado negativo ÚNICAMENTE cuando el marcador RNasaP (IPC) es positivo.

Un resultado inconcluso puede ocurrir si cualquiera de los controles falla. Vea la sección e resolución de problemas de este documento.

La interpretación de resultados puede traducirse en la siguiente Tabla.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Interpretación de Resultados

Marcador	ZIKV	DENV	CHIKV	Control Positivo Interno del Paciente (RNasaP)	Control Positivo de Logix Smart™	Control Sin Formato (NC) Mezcla Maestra + Agua Libre de Nucleasas del Logix Smart™	Resultado
Lectura del Instrumento	+	+	+	Pasa	Pasa		+ con el ARN del virus del Zika, dengue y chikungunya
	-	-	-				- con el ARN del virus del Zika, dengue y chikungunya
	+	-	-				+ con ARN del virus del Zika
							- con el ARN del virus del Dengue
							- con el ARN del virus de Chikungunya
							- con el ARN del virus de Zika
	-	+	-				+ con el ARN del virus de Dengue
							- con el ARN del virus de Chikungunya
	-	-	+				- con el ARN del virus del Dengue
							- con el ARN del virus del Dengue
			+ con el ARN del virus de Chikungunya				
			+ con el ARN del virus del Zika				
			+ con el ARN del virus de Dengue				



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

					- con el ARN del virus de Chikungunya
					- con el ARN del virus de Zika
	-	+	+		+ con el ARN del virus de Dengue
					+ con el ARN del virus de Chikungunya
					+ con ARN del virus del Zika
	+	-	+		- con el ARN del virus del Dengue
Cualquier Resultado	Falla		Pasa		Inconcluso: Vea la Solución de Problemas
	Pasa		Falla Pasa	Pasa Falla	

Cualquier resultado de un analito será considerado positivo (+) si tiene un valor Cq de < 45, o negativo (-) si el valor Cq es ≥ 45 ciclos. Cuando sea posible, siempre revise que el historial médico y/o los síntomas concuerdan con el resultado antes del tratamiento.

12. Limitaciones del proceso de medición

- Cumplimiento estricto con este documento es requerido para resultados óptimos. El uso de este producto debe estar limitado a personal entrenado e instruido en técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos IVD.
- Las buenas prácticas de laboratorio son esenciales para el desempeño adecuado de este ensayo. También se recomienda que al momento de recibir los reactivos, se realice una prueba de ensayo para revisar la pureza, integridad y el desempeño de los reactivos antes de probar en las muestras de los pacientes.
- Los procedimientos adecuados de recolección, transporte, almacenamiento y procesamiento son requeridos para resultados óptimos.


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- No use los componentes del kit Logix Smart™ ZDC directamente en los especímenes recolectados. Realice una extracción apropiada de ácido nucleico antes de usar la prueba.
- La presencia de inhibidores PCR pueden causar falsos negativos o resultados inválidos.
- Las mutaciones potenciales de las regiones objetivo del genoma del ZIKV, DENV y CHIKV están cubiertas por este kit de prueba puede resultar en fallar en detectar la presencia de los patógenos.
- Como toda prueba diagnóstica, los resultados de un kit Logix Smart™ ZDC deben ser interpretados con consideración de todos los hallazgos clínicos y del laboratorio.

13. Control Interno de calidad

Para el control interno de calidad consultar punto 11 apartado “Validez de las pruebas de diagnóstico”.

14. Desempeño del producto

14.1. Muestras artificiales para estudios de verificación y validación

Todas las muestras utilizadas para la evaluación del rendimiento de Logix Smart™ ZDC están compuestas por una matriz natural adquirida por un proveedor aprobado por el biorepositorio o una muestra recién donada de sujetos sanos, enriquecida con el material de referencia cuantificado del objetivo. Estos materiales de referencia son proporcionados por uno de los proveedores aprobados de Co-Diagnostics: ATCC (The American Type Culture Collection), Vircell, SeraCare, ZeptoMetrix, PEI (Paul Ehrlich-Institut) y Exact Diagnostics.

Matrices utilizadas para muestras artificiales:

Las matrices utilizadas para preparar las muestras artificiales se seleccionaron según las recomendaciones de los CDC (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades), la OMS (Organización Mundial de la Salud) o la OPS (Organización Panamericana de la Salud), para realizar pruebas de presencia de Zika, dengue y virus chikungunya.



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is above the text: "Biod. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is above the text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", "APODERADO".

Los productos SeraCare provienen de donantes a los que se les realizaron pruebas de HBsAg, Anti VIH1/2, Anti-VHC, Sífilis, ARN del VIH-1, ARN del VHC y ADN del VHB. Los productos de Discovery Lifesciences deben tratarse con precauciones adicionales, ya que las muestras no han sido analizadas para detectar HBsAg, Anti-VIH1/2, Anti-VHC, Sífilis, ARN del VIH-1, ARN del VHC y ADN del VHB. Todas las muestras y matrices utilizadas se manipularon con precauciones universales.

Matrices adquiridas para muestras artificiales

Tipo de matriz de muestra	Nombre del producto	Fabricante
Plasma	Diluyente negativo SeraCon™	SeraCare
Suero	Suero humano combinado	SeraCare
LCR	Líquido cefalorraquídeo (LCR)	Discovery Life Sciences
Orina	Muestras de orina donadas	N/A

Muestras de orina donadas

Se reclutó a sujetos sanos para que donaran muestras con el fin de probar el Logix Smart™ ZIKV de la empresa para evaluar su rendimiento. Las muestras no utilizadas se almacenaron a -20 °C y también se utilizaron para probar el rendimiento analítico del kit Logix Smart™ ZDC. La tabla siguiente contiene la fecha de recolección e información adicional de la muestra.

Se proporcionó una carta de consentimiento que contiene información sobre Co-Diagnostics y el kit Logix Smart™ ZIKV, junto con instrucciones sobre cómo recolectar la orina.

Se proporcionaron tubos recolectores con toallitas antisépticas y bolsas de transporte.

En total, 20 donantes proporcionaron muestras y firmaron el consentimiento para el estudio. Todas las muestras fueron numeradas. Se pidió a los sujetos que proporcionaran su nombre y número de teléfono. Se pidió a los sujetos que no donaran si se sabía que padecían una enfermedad infecciosa actual. Un sujeto



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

había regresado recientemente de un viaje al Caribe, República Dominicana y Honduras, pero sin síntomas de enfermedad.

En las cartas de consentimiento se registró la numeración y la fecha de recogida de las muestras. Se indicó a los sujetos que mantuvieran las muestras refrigeradas y entregadas al laboratorio dentro de las 48 horas. En el laboratorio las muestras se mantuvieron congeladas hasta el inicio de las pruebas. Todas las muestras de orina se caracterizaron para detectar el virus del Zika antes de combinarlas para usarlas en el límite de detección (LoD). Todas las muestras fueron tratadas con precauciones universales ya que no se les han realizado pruebas de HBsAg, Anti-VIH1/2, Anti-VHC, Sífilis, ARN del VIH-1, ARN del VHC y ADN del VHB.

Listado de muestras de orina donadas

Identificación Interna	Fecha de recogida	Género del donante	¿Se proporciona muestra adicional?	Fecha de prueba
Muestra 1	6-9-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 2	29-8-2018	F	No	11-9-2018
Muestra 5	29-8-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 8	4-9-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 11	7-9-2018	F	No	7-9-2018
Muestra 12	5-9-2018	F	No	7-9-2018
Muestra 13	5-9-2018	F	No	11-9-2018
Muestra 14	30-8-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 15	6-9-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 16	5-9-2018	F	No	11-9-2018
Muestra 19	29-8-2018	F	No	11-9-2018
Muestra 20	5-9-2018	M	No	7-9-2018
Muestra 21	6-9-2018	F	No	11-9-2018
Muestra 22	29-8-2018	F	No	11-9-2018
Muestra 23	29-8-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 24	5-9-2018	F	No	11-9-2018
Muestra 25	6-9-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 26	30-8-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 27	29-8-2018	M	No	11-9-2018
Muestra 29	5-9-2018	F	No	7-9-2018
Muestra 30	5-9-2018	M	No	7-9-2018


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Material de referencia

Todo el material de referencia adquirido con el fin de realizar estudios de verificación y validación proviene de proveedores aprobados, bien conocidos y utilizados para la evaluación del desempeño en la industria.

Los proveedores de material de referencia de Co-Diagnostics son: ATCC (organización sin fines de lucro, The American Type Culture Collection), Vircell (organización con fines de lucro), SeraCare (organización con fines de lucro), ZeptoMetrix (organización con fines de lucro, BEI Resources (organización sin fines de lucro). organización establecida por el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas (NIAID)), Paul-Ehrlich-Institut (PEI, una agencia del Ministerio Federal de Salud de Alemania para la calidad, eficacia y seguridad de los medicamentos) y Exact Diagnostics (organización con fines de lucro). Todos los materiales de referencia que se utilizaron para las pruebas de verificación se enumeran en la siguiente Tabla.

Materiales de referencia utilizados para el estudio:

Microorganismo	Descripción	Proveedor	N° de lote	Cepa	Concentración
Virus Chikunguña	ARN genómico cuantitativo	ATCC	70014520	Virus chikungunya (T27 PETERSFIELD)	3,4 x 10 ⁵ copias del genoma/μL
Dengue tipo 1	ARN sintético del virus del dengue tipo 1	ATCC	70000809	Fragmento de cápside, membrana y envoltura del virus.	3,4 x 10 ⁵ copias del genoma/μL
Virus del dengue tipo 1	ARN genómico cuantitativo	Recursos BEI	367	UIS 998	1x10 ⁴ copias/μL
Virus del dengue tipo 2	ARN genómico cuantitativo	Recursos BEI	70004142	Nueva Guinea C	4,4x10 ⁴ copias/μL
Virus del dengue tipo 3	ARN genómico cuantitativo	Recursos BEI	369	DENV 3/US/BID V1043/2006	2,2x10 ³ copias/μL



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Virus del dengue tipo 4	ARN genómico cuantitativo	Recursos BEI	370	UIS 497	6,72x10 ³ copias/μL
Virus Chikunguña	CHIKV (linaje ESCA)	Instituto Paul Ehrlich	N/A	R91064	2,5 x 10 ⁶ unidades/ml
Control de ARN del virus del Zika	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC072001 17MBC103001	MR-766 (KX377335.1)	12500 copias/μL
Control de ARN del virus Zika (linaje asiático)	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC103001 18MBC103001-R	PRVABC59 (KU501215)	16000 copias/μL
Virus del Nilo Occidental (VNO)	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC069001	Nueva York 99 Aislar 4132 (HQ596519.1)	13000 copias/μL
Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas (TBEV)	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC045001	Poliproteína neudoerfl (U27495.1)	15000 copias/μL
Control de ARN del virus del dengue 1	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC055003	Cepa Hawái (KM204119.1)	18000 copias/μL
Control de ARN del virus del dengue 2	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC056002	Nueva Guinea C (KM204118.1)	13000 copias/μL
Control de ARN del virus del dengue 3	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	18MBC057001	Virus del dengue 3 (KU050695.1)	12500 copias/μL
Control de ARN del virus del dengue 4	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC058001 18MBC058001	Virus del dengue 4 cepa H241 (KR011349.2)	14000 copias/μL



Bioq. Alicia Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Control de ARN del virus Chikunguña	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	16MBC099 001 17MBC099 001 18MBC099 001	Virus Chikunguña (S27 PETERSFIELD)	15500 copias/ μ L
Control de ARN Influenza A H1	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	18MBC028 001-R	Influenza A H1 (CY058484.1, CY058485.1, CY058486.1, CY058487.1, CY058488.1, CY058489.1, CY058490.1, CY058491.1)	14000 copias/ μ L
Nuevo control de ARN de influenza A H1N1	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	18MBC082 001-R	Influenza A H1N1 (FJ966976.1, FJ969531.1, FJ969529.1, FJ969540.1, FJ969536.1, FJ984386.1, FJ969537.1, FJ969528.1)	15000 copias/ μ L
Control de ARN del virus de la encefalitis de San Luis	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC101 001	Encefalitis de San Luis (MSI-7)	15000 copias/ μ L
Control de ARN del sarampión	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	18MBC046 001-R	Semilla maestra de Edmonston Zagreb (AY486083.1)	14000 copias/ μ L
Control de ARN de influenza A H5	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	18MBC052 001	Influenza A H5 (GQ454868.1, GQ454867.1, GQ454866.1, GQ454865.1, GQ454864.1, GQ454863.1, GQ454862.1, GQ454861.1)	19000 copias/ μ L
Control del ADN del virus de	ARN genómico cuantitativo	Vircell	16MBC065 001	Virus gammaherpes humano 4 (NC_007605.1)	16000 copias/ μ L



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Epstein-Barr	extraído con Amplirun				
Control de ARN de la gripe B	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC030001	Influenza B (CY073893.1, CY073894.1, FJ766839.1, KC866602.1, KC866603.1, KC866605.1)	13000 copias/μL
Control de ADN de Borrelia burgdorferi	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC076001	B. afezelii, B. burgdorferi, B. garinii (CP000395, KF422803.1, AY836549.1, D67018, U68005, D82846)	15000 copias/μL
Control de ADN del virus varicela-zóster	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC048001	Secuencias Parciales VZV (DQ077821.1, DQ077822.1, DQ075209.1, DQ531049.1, DQ910905.1, DQ910906.1, DQ145725.2, AH009994.2)	20000 copias/μL
Control del ARN de la encefalitis equina del este	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC097001	Cepa Florida (91-469)	14000 copias/μL
Control de ARN de influenza A H3	ARN genómico cuantitativo extraído con Amplirun	Vircell	17MBC029001	Influenza A H3 (GQ293082.1, GQ293081.1, KJ609209, KJ609203, KJ609210)	16000 copias/μL
Virus Zika (ZIKV)	Panel de verificación del rango del virus del Zika de NATtrol	Zeptomatrix	319516	MR-766 (KU720415)	Alto, Medio, Bajo, Negativo
Virus del dengue tipo 1	Fluido de cultivo del virus del	Zeptomatrix	316065	Hawai	1 x 10 ^{5.15} U/mL



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	dengue tipo 1				
Virus del dengue tipo 2	Fluido de cultivo del virus del dengue tipo 2	Zeptomatrix	316066	Nueva Guinea	1 x 10 ^{5.23} U/mL
Virus del dengue tipo 3	Fluido de cultivo del virus del dengue tipo 3	Zeptomatrix	316067	H87	1 x 10 ^{6.10} U/mL
Virus del dengue tipo 4	Fluido de cultivo del virus del dengue tipo 4	Zeptomatrix	316522	H241	1 x 10 ^{6.18} U/mL
Virus Zika (ZIKV)	Miembros del Panel de Verificación del Zika 1-5	Exact Diagnostics	17090714	PRVABC59 (KU501215)	Miembro del panel 1: 100 cp/mL Miembro del panel 2: 1000 cp/mL Miembro del panel 3: 10 000 cp/mL Miembro del panel 4: 100 000 cp/mL Miembro del panel 5: 1.000.000 cp/mL
Cita: El reconocimiento de publicaciones debe decir "El siguiente reactivo se obtuvo a través de BEI Resources, NIAID, NIH: Genomic RNA from Dengue Virus Type 4, UIS 497, NR-50533".					

14.2. Corte de Ensayo:

El límite para Logix Smart ZDC se estableció en 45 ciclos después de la revisión del estudio anterior realizado para Logix Smart™ ZIKV con el límite convencional de 40 ciclos. Sin embargo, las muestras verdaderamente positivas aún se amplificaron en más de 40 ciclos. Una hipótesis planteada es que debido a la complejidad del CoPrimer, requiere más ciclos para realizarse en comparación con un cebador normal.



BIOD. ALIDA LUCIA ÁLVAREZ
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Las pruebas realizadas para determinar el límite con cuatro pruebas ejecutadas hasta 60 ciclos en condiciones regulares encontraron que solo una ejecución amplificaba a Ct=50,96 con una muestra de ADNg. Este resultado demostró que el límite de 45 es razonable y seguro; sin embargo, se puede investigar una determinación más específica en el futuro.

14.3. Límite de detección (LOD):

El LoD (límite de detección) del kit es la concentración del virus (carga viral en copias/ml siempre que sea posible) en la que se puede detectar el 95 % de las veces. El protocolo fue diseñado de acuerdo a EP17-A2 (CLSI, 2012) y dengue – Controles Especiales Clase II (FDA, 2014). Tenga en cuenta que, dado que las infecciones virales por Zika y chikungunya son un problema de salud pública relativamente nuevo, no existen estándares específicos a seguir al establecer el rendimiento de las pruebas de ácido nucleico para qPCR u otros diagnósticos moleculares. Se han realizado y publicado considerables investigaciones, sin embargo, no se han creado estándares al momento de la emisión de este informe.

Descripción de la prueba

Para determinar el LoD se utilizó el método Probit, descrito en el CLSI EP17-A2. Se realizaron cambios mínimos en el protocolo, principalmente se ajustó el número de réplicas por ejecución para adaptarse mejor al termociclador CoDx Box™ utilizado para ejecutar las reacciones. Los protocolos se diseñaron con tres días de prueba, utilizando dos lotes de reactivos, con una ejecución por lote, por día, con tres muestras (cuando sea posible), cinco diluciones por ejecución de muestra con ocho réplicas por ejecución, una PC (Control Positivo), un NTC (Control Negativo) y seis extracciones negativas para cada uno de los analitos objetivo.

El Zika se analizó en suero, plasma, orina y líquido cefalorraquídeo (LCR). Se analizaron los virus del dengue y chikungunya en suero y plasma. El LoD de cada agente se determinó antes y después de la extracción para comparar el impacto del proceso de extracción con el rendimiento de Logix Smart™ ZDC. El LoD para el LCR



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

se determinó analizando 24 réplicas en concentraciones cercanas al LD establecido en suero/plasma de Zika.

El primer paso para determinar el LoD implicó seleccionar las mejores concentraciones que pudieran proporcionar suficientes puntos de datos para un análisis estadístico Probit y Logit.

Preparación de muestras artificiales previas a la extracción

Para las pruebas previas a la extracción, las muestras se prepararon añadiendo el material de referencia (virus inactivado completo o líquido de cultivo) en concentraciones predeterminadas a la matriz correspondiente. Los materiales utilizados se enumeran en la siguiente tabla.

Cepa del material de referencia utilizado en la prueba de preextracción:

Microorganismo	Cepa	Proveedor	Matriz
Zika asiático	PRVABC59 (KU501215)	Exact Diagnostics	Plasma
Chikungunya	R91064	PEI	Plasma
Dengue T1	Hawai	Zeptomatrix	Plasma
Dengue T2	Nueva Guinea	Zeptomatrix	Plasma
Dengue T3	H87	Zeptomatrix	Plasma
Dengue T4	H241	Zeptomatrix	Plasma

Preparación de muestras artificiales después de la extracción

Para las pruebas posteriores a la extracción, las muestras se prepararon añadiendo el material de referencia en concentraciones predeterminadas a la matriz correspondiente.

Los materiales utilizados se enumeran en la siguiente tabla:

Microorganismo	Cepa	Proveedor	Matriz
Zika asiático	PRVABC59 (KU501215)	Vircell	Suero, plasma, orina, LCR
Zika africano	MR-766 (KX377335.1)	Vircell	Suero
Chikungunya	S27 Petersfield	Vircell	Suero



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	NA (material sintético)	ATCC	Suero
Dengue T1	70000809	ATCC	Suero
Dengue T2	Sintético	IDT	Plasma
Dengue T3	Virus del dengue 3 (KU050695.1)	Vircell	Plasma
Dengue T4	Virus del dengue 4 cepa H241(KR011349.2)	Vircell	Plasma

Criterios de aceptación

El límite de detección (LoD) es la concentración más baja de analito que se detecta a una tasa no inferior al 95 %.

Resultados

Los resultados de los experimentos de límite de detección se proporcionan a continuación en dos secciones separadas: Preextracción con Zika enriquecido y postextracción con Zika enriquecido.

Material de referencia de Zika, dengue y chikungunya con preextracción enriquecida. En las siguientes tablas se presenta un resumen de los datos utilizados para establecer el límite de detección (LOD) en muestras artificiales con preextracción enriquecida para muestras artificiales de Zika, chikungunya y dengue. Se prepararon muestras artificiales de Zika y chikungunya con material de referencia de virus completo inactivado y cuantificado. Para el dengue, el único material de referencia encontrado fue un fluido de cultivo con concentración proporcionada en TCID50. Los resultados de TCID50 se convirtieron en UFP/mL. Por limitaciones de la técnica.

El virus Zika (linaje asiático) aumentó la preextracción en plasma

Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de fallos	Tasa de detección
3000 Copias/140 µL	37.64	0.91	2.43%	3/4	75.0%
2000 Copias/140 µL	36.70	1.48	4.04%	8/8	100.0%
1500 Copias/140 µL	36.98	0.97	2.63%	8/8	100.0%



Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

1000 Copias/140 μ L	36.65	1.24	3.38%	8/8	100.0%
750 Copias/140 μ L	37.33	1.83	4.89%	42/56	75.0%
700 Copias/140 μ L	35.98	1.85	5.16%	44/48	91.67%
650 Copias/140 μ L	38.20	1.29	3.39%	43/48	89.58%
600 Copias/140 μ L	37.67	1.34	3.55%	46/48	95.83%
500 Copias/140 μ L	37.67	1.16	2.99%	23/56	41.07%

El virus chikungunya (S27 Petersfield) se incrementó antes de la extracción en plasma

Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de lalmadas	Tasa de detección
1500 Copias/140 μ L	35.49	0.69	1.93%	4/4	100.0%
1000 Copias/140 μ L	34.58	0.65	1.89%	8/8	100.0%
750 Copias/140 μ L	34.66	0.81	2.34%	8/8	100.0%
500 Copias/140 μ L	35.60	0.69	1.94%	8/8	100.0%
250 Copias/140 μ L	35.32	1.49	4.21%	56/56	100.0%
100 Copias/140 μ L	36.59	5.50	15.04%	45/56	80.36%
75 Copias/140 μ L	36.43	1.38	3.80%	28/48	58.33%
50 Copias/140 μ L	35.69	7.11	19.92%	27/48	56.25%
25 Copias/140 μ L	36.93	2.32	6.28%	11/48	22.92%

Para establecer el LoD en 95%, se aplicaron los cálculos Probit y Logit a los resultados encontrados en las diversas diluciones que se muestran en la Tabla 4.15 para el ZIKV y en la Tabla 4.16 para el virus chikungunya. El análisis Probit con la tasa de detección estimada en el límite de detección donde la tasa de detección es del 95% se presenta en la siguiente Tabla.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

El LoD de Zika y chikungunya en muestras artificiales de plasma se añadió antes de la extracción

Valores de análisis	Plasma Zika (linaje asiático)	Chikungunya (S27 Petersfield) Plasma
Pendiente	5.643	2.427
Interceptar	-3.971	3.417
Valor de prueba	6.645	6.645
Concetración Log LOD	1.881	1.330
LOD calculado (copias/rxn)	76.076	21.368
LOD calculado (copias/mL)	1,52 x 10 ⁴ copias/mL	4,27 x 10 ³ copias/mL

Como se explicó anteriormente, la prueba de preextracción del dengue se realizó con muestras artificiales preparadas con material de referencia de fluido de cultivo inactivado cuantificado e informado en TCID50. Luego se convirtió a UFP/ml multiplicando la TCID50 por 0,7 (ATCC, 2013).

Preextracción del virus del dengue tipo 1-4 en plasma

Virus del dengue tipo 1 (Hawái)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
20 PFU/140µl	36.68	2.31	6.29%	47/48	97.92%
17 PFU/140µl	38.41	2.95	7.69%	25/48	52.08%
15 PFU/140µl	38.73	3.97	10.24%	20/48	41.67%
12 PFU/140µl	38.18	3.28	8.59%	27/48	56.25%
9 PFU/140µl	38.13	2.41	6.33%	42/48	87.50%
Virus del dengue tipo 2 (Nueva Guinea)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
12 PFU/140µl	36.52	0.42	1.15%	48/48	100.0%
10 PFU/140µl	38.15	0.43	1.14%	48/48	100.0%
8 PFU/140µl	38.72	0.98	2.52%	48/48	100.0%
6 PFU/140µl	32.85	0.38	1.15%	48/48	100.0%
4 PFU/140µl	40.42	1.12	2.77%	48/48	100.0%
Virus del dengue tipo 3 (H87)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
12 PFU/140µl	40.62	0.95	2.35%	48/48	100.0%
10 PFU/140µl	41.45	1.48	3.58%	47/48	97.92%
8 PFU/140µl	42.04	1.53	3.65%	44/48	91.67%
6 PFU/140µl	42.34	1.22	2.88%	34/48	70.83%

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matricula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUSHOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

4 PFU/140µl	43.19	1.49	3.44%	29/48	60.42%
Virus del dengue tipo 4 (H241)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
12 PFU/140µl	41.09	1.76	4.28%	29/48	60.42%
10 PFU/140µl	41.14	1.88	4.57%	33/48	68.75%
8 PFU/140µl	41.32	1.60	3.88%	25/48	52.08%
6 PFU/140µl	41.73	1.82	4.36%	12/48	25.00%
4 PFU/140µl	42.18	1.73	4.11%	11/48	22.92%

Para establecer el LoD al 95%, los cálculos Probit y Logit se aplicaron a los resultados encontrados en las diversas diluciones Tabla 4.18. El análisis Probit con la tasa de detección estimada en el límite de detección donde la tasa de detección es del 95% se presenta en la Tabla siguiente.

Dengue tipo 1-4 LoD en muestras artificiales de plasma enriquecidas antes de la extracción

Valores de análisis	Dengue T1 (Hawái)	Dengue plasmático T2 (Nueva Guinea) Plasma*	Dengue T3 (H87) Plasma	Dengue T4 (H241) Plasma
Pendiente	7.622	-	4.489	2.696
Interceptar	4.325	-	6.735	5.333
Valor de prueba	6.645	-	6.645	6.645
Concentración Log LOD	0.304	-	-0.020	0.487
LOD calculado (copias/rxn)	2.015	-	0.955	3.066
LOD calculado (copias/mL)	4.03x10 ² PFU/mL	Al menos 28,57* UFP/mL	1.9x10 ² PFU/mL	6.13 x10 ² copias/mL

Nota: Los valores calculados para LOD se dan en unidades formadoras de placa (PFU)/ml.

*: El análisis probit no se pudo realizar como resultado de la tasa de detección del 100 % para todos los datos recopilados. El LoD se basó en la concentración más baja probada y se encontró con una tasa de detección del 100 %.

El material de referencia sobre Zika, dengue y chikungunya aumentó después de la extracción:




 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matricula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

En la Tabla siguiente se presenta un resumen de los datos utilizados para establecer el límite de detección (LOD) en muestras artificiales enriquecidas después de la extracción para muestras artificiales de Zika.

Para establecer el LoD en 95%, se aplicaron los cálculos probit y logit a los resultados encontrados en las distintas diluciones (Tabla 4.19). El análisis probit con la tasa de detección estimada en el límite de detección donde la tasa de detección es del 95% se presenta en la Tabla a continuación.

Linaje asiático en suero					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
150 Copias/rxn	38.81	1.74	4.48%	53/56	94.64%
100 Copias/rxn	39.61	1.80	4.53%	50/56	89.29%
75 Copias/rxn	39.90	1.92	4.81%	41/56	73.21%
50 Copias/rxn	39.72	1.99	5.01%	42/56	75.00%
25 Copias/rxn	40.10	1.47	3.66%	22/56	39.29%
Africana en plasma					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
250 Copias/rxn	36.39	0.93	36.39%	48/48	100.00%
100 Copias/rxn	37.57	0.90	37.57%	41/48	85.42%
75 Copias/rxn	38.12	0.85	38.12%	36/48	75.00%
50 Copias/rxn	38.09	0.67	38.09%	28/48	58.33%
25 Copias/rxn	38.66	1.59	38.66%	12/48	25.00%
Linaje asiático en orina					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
200 Copias/rxn	38.55	1.66	4.31%	29/32	90.63%
150 Copias/rxn	38.59	1.66	4.30%	42/48	87.50%
100 Copias/rxn	37.90	1.23	3.24%	34/48	70.83%
75 Copias/rxn	38.11	1.48	3.90%	23/48	47.92%
50 Copias/rxn	38.36	0.83	2.16%	21/48	43.75%
25 Copias/rxn	39.06	0.78	2.00%	5/16	31.25%
Linaje asiático en LCR (Confirmación)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
200 Copias/rxn	38.66	1.24	3.21%	23/24	95.83%
100 Copias/rxn	38.71	1.34	3.46%	19/24	79.17%
75 Copias/rxn	39.22	1.02	2.60%	10/24	41.67%
50 Copias/rxn	40.29	1.06	2.64%	13/24	54.17%
25 Copias/rxn	40.42	0.96	2.38%	8/24	33.33%


 Biot. Alda Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Para establecer el LoD en 95%, se aplicaron los cálculos probit y logit a los resultados encontrados en las distintas diluciones. El análisis probit con la tasa de detección estimada en el límite de detección donde la tasa de detección es del 95% se presenta en la Tabla siguiente.

Virus Zika (linaje asiático/africano) LoD de muestras artificiales aumentadas después de la extracción

Valores de análisis	Dengue T1 (Hawái)	Dengue plasmático T2 (Nueva Guinea) Plasma*	Dengue T3 (H87) Plasma	Dengue T4 (H241) Plasma
Pendiente	2.33	2.85	2.15	2.35
Interceptar	1.51	0.34	1.28	1.04
Valor de prueba	6.64	6.64	6.64	6.64
Concetración Log LOD	2.20	2.21	2.49	2.38
LOD calculado (copias/rxn)	159.38	161.65	311.56	241.59
LOD calculado (copias/mL)	3.19x10 ⁴ copias/mL	3.23x10 ⁴ copias/mL	6.23x10 ⁴ copias/mL	4.83 x10 ⁴ copias/mL

Lo mismo se ha aplicado a las muestras artificiales de chikungunya:

Virus chikungunya (S27 Petersfield) post-extracción en suero:

S27 Petersfield, Vircell					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
100 Copias/rxn	31.09	0.48	1.56%	32/32	100.0%
25 Copias/rxn	33.45	0.50	1.49%	31/32	96.88%
10 Copias/rxn	35.17	0.85	2.42%	32/32	100.0%
5 Copias/rxn	35.95	0.99	2.75%	74/80	92.50%
4 Copias/rxn	35.95	1.31	3.63%	45/48	93.75%
3 Copias/rxn	36.39	1.22	3.35%	37/48	77.08%
2 Copias/rxn	36.65	1.03	2.82%	37/48	77.08%
1 Copias/rxn	37.36	0.66	1.77%	23/80	28.75%
Material sintético, ATCC					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
5 Copias/rxn	36.13	1.34	3.71%	43/48	89/58%
4 Copias/rxn	36.07	1.25	3.47%	37/48	77.08%
3 Copias/rxn	36.23	1.05	2.90%	39/48	81.25%
2 Copias/rxn	36.88	1.30	3.52%	27/48	56.25%


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

1 Copias/rxn	37.02	1.25	3.38%	11/48	22.92%
--------------	-------	------	-------	-------	--------

Virus chikungunya (S27 Petersfield) LoD de muestras artificiales aumentadas después de la extracción

Valores de análisis	Suero contra chikungunya (Vircell)	Suero contra chikungunya (ATCC)
Pendiente	2.91	2.75
Interceptar	4.57	4.32
Valor de prueba	6.64	6.64
Concentración Log LOD	0.71	0.85
LOD calculado (copias/rxn)	5.17	7.01
LOD calculado (copias/mL)	1.03x10 ³ Copias/mL	1.40x10 ³ Copias/mL

Virus del dengue tipo 1-4 añadido después de la extracción en plasma

Virus del dengue tipo 1 (ATCC)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
500 Copias/rxn	33.24	1.71	5.16%	40/48	83.33%
400 Copias/rxn	33.75	1.64	4.85%	38/48	79.17%
350 Copias/rxn	33.63	1.37	4.07%	35/48	72.92%
300 Copias/rxn	33.53	0.66	1.98%	33/48	68.75%
200 Copias/rxn	34.42	1.01	2.95%	27/48	56.25%
Plantilla sintética del virus del dengue tipo 1 (IDT)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
500 Copias/rxn	33.57	0.66	1.97%	47/48	97.82%
400 Copias/rxn	34.47	0.88	2.55%	44/48	91.67%
300 Copias/rxn	34.91	0.77	2.20%	43/48	89.58%
200 Copias/rxn	35.83	0.83	2.31%	37/48	77.08%
150 Copias/rxn	36.25	1.21	3.33%	25/48	52.08%
Virus del dengue tipo 2 (Nueva Guinea C (NGC))					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
300 Copias/rxn	41.12	1.27	3.08%	41/48	85.42%
250 Copias/rxn	41.51	1.17	2.82%	41/48	85.42%
200 Copias/rxn	41.56	1.15	2.77%	37/48	77.08%
150 Copias/rxn	42.01	1.11	2.65%	34/48	70.83%
100 Copias/rxn	41.92	0.93	2.22%	21/48	43.75%
Virus del dengue tipo 3 (DENV3/US/BIDV1043/2006)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
100 Copias/rxn	84.09	41.99	1.08%	37/44	84.09%




 Bco. Alicia Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

75 Copias/rxn	77.27	42.56	1.26%	34/44	77.27%
50 Copias/rxn	59.09	42.75	1.34%	26/44	59.09%
25 Copias/rxn	47.73	42.92	1.18%	21/44	47.73%
10 Copias/rxn	20.45	42.44	1.17%	9/44	20.45%
Virus del dengue tipo 4 (UIS 497)					
Concentración	Valor medio de Cq	SD	CV%	Tasa de llamadas	Tasa de detección
250 Copias/rxn	39.04	7.71	19.76%	30/44	68.18%
150 Copias/rxn	41.37	1.64	3.97%	19/44	43.18%
100 Copias/rxn	41.13	1.49	3.62%	18/44	40.91%
75 Copias/rxn	41.89	1.19	2.83%	11/44	25.00%
50 Copias/rxn	40.74	2.05	5.03%	10/44	22.73%

LoD del virus del dengue tipo 1-4 de muestras artificiales aumentadas después de la extracción en plasma:

Valores de análisis	Dengue T1 (ATCC)	Dengue T1 (IDT)	Dengue T2 (Nueva Guinea C)	Dengue T3 (DENV 3/US/BID V1043/2006)	Dengue T4 (UIS 497)
Pendiente	2.08	3.39	2.58	1.77	1.74
Interceptar	0.36	-2.22	-0.20	2.40	1.19
Valor de prueba	6.64	6.64	6.64	6.64	6.64
Concentración Log LOD	3.02	2.61	2.66	2.40	3.13
LOD calculado (copias/rxn)	1057.01	410.52	454.00	252.48	1345.63
LOD calculado (copias/mL)	2.11x10 ⁵ copias/mL	8.21x10 ⁴ copias/mL	9.08x10 ⁴ copias/mL	5.05x10 ⁴ copias/mL	2.69x10 ⁵ copias/mL

Conclusión

Se ha determinado con éxito un límite de detección general para los marcadores ZIKV, DENV y CHIKV. La Tabla 4.26 muestra los límites de detección de Zika, dengue y chikungunya cuando se añaden antes y después de la extracción en diferentes tipos de muestras y cepas de virus. El propósito de muchos resultados es proporcionar más especificaciones y parámetros para diferentes situaciones en el diagnóstico clínico.




 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Límite de detección (LOD) para los virus Zika, dengue y Chikungunya

Marca	Muestra	Cepa	LOD pretendido
Virus Zika	Suero (enriquecido después de la extracción)	Linaje asiático, PRVABC59	3.19 x10 ⁴ copias/mL
		Africano, MR766	3.23 x10 ⁴ copias/mL
	Plasma (enriquecido después de la extracción)	Linaje asiático, PRVABC59	1.52 x10 ⁴ copias/mL
	Orina (enriquecido después de la extracción)	Linaje asiático, PRVABC59	6.23 x10 ⁴ copias/mL
	LCR (enriquecido después de la extracción)	Linaje asiático, PRVABC59	4.83 x10 ⁴ copias/mL
Virus Chikungunya	Suero (enriquecido después de la extracción)	S27 Petersfield	1.03 x10 ³ copias/mL
	Plasma (enriquecido después de la extracción)	R91064	4.27 x10 ³ copias/mL
Virus del dengue tipo 1-4	Plasma (enriquecido después de la extracción)	ARN cuantitativo del virus del dengue sintético tipo 1 (ATCC® VR3228SD™)	2.11 x10 ⁵ copias/mL
		N/A IDT (plantilla de ARN sintético)	8.21 x10 ⁴ copias/mL
		Dengue tipo 2, Nueva Guinea C	9.08 x10 ⁴ copias/mL
		Dengue tipo 3, H87	5.05 x10 ⁴ copias/mL
	Plasma (enriquecido después de la extracción)	Dengue tipo 4, H241	2.69 x10 ⁵ copias/mL
		Dengue tipo 1, Hawái	4.03 x10 ² PFU/mL
		Dengue tipo 2, Nueva Guinea C	7.27 x10 PFU/mL
		Dengue tipo 3, H87	1.91 x10 ² PFU/mL
	Dengue tipo 4, H241	6.13 x10 ² PFU/mL	



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

El límite de detección encontrado para los marcadores de Zika, dengue y chikungunya en el dispositivo médico IVD Logix Smart™ ZDC es comparable al límite de detección declarado de otros productos en el mercado, como la prueba Trioplex de los CDC y ArboViroPlex de Columbia. Universidad. No fue posible encontrar más datos de rendimiento de FTD Zika, dengue y chikungunya de Fast Track Diagnostics, Viasure o CerTest para comparar rendimientos adecuadamente. Sin embargo, los datos preliminares sugieren que Logix Smart™ ZDC funcionó igual o mejor en lo que respecta al límite de detección. Los resultados de Logix Smart™ ZDC también reflejan la extracción manual con QIAmp mini de Qiagen. Se realizarán estudios futuros para evaluación con otros métodos de extracción, incluidos los automatizados.

14.4. Especificidad analítica:

La verificación y validación de las pruebas Logix Smart™ ZDC se realizaron añadiendo suero, plasma, LCR u orina con un material de referencia de Zika, dengue o chikungunya si había un material de referencia adecuado disponible o si el laboratorio tenía suficientes condiciones de bioseguridad y requisitos de instalación para Manejar el material de referencia.

Cuando una cepa deseable no está disponible o cuando el material de referencia disponible requiere un nivel de bioseguridad superior a BSL-2, el estudio de reactividad cruzada se realizó como análisis in-silico.

La especificidad analítica se evaluó en términos de reactividad cruzada para inclusión, exclusividad y sustancias interferentes. Al realizar pruebas de inclusión, se probaron las principales cepas relevantes para el público objetivo de la comercialización. Al realizar pruebas de exclusividad, se probaron los principales microorganismos de reacción cruzada para garantizar que

La presencia de otras coinfecciones no interfiere con el rendimiento de Logix Smart™ ZDC.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Al realizar pruebas de sustancias que interfieren, el Logix Smart™ ZDC se probó en presencia de posibles inhibidores endógenos de los tipos de muestras para evaluar el riesgo de que la sustancia interfiera en los resultados.

14.4.1. Reactividad cruzada: inclusión

La reactividad cruzada en términos de estudios de inclusión demostró que el kit Logix Smart™ ZDC puede identificar las cepas de Zika, dengue y chikungunya más relevantes para los mercados de comercialización objetivo.

Descripción de las Pruebas

Para determinar si Logix Smart™ ZDC puede detectar las cepas relevantes, se evaluaron los resultados de las pruebas y se realizaron ejecuciones para determinar la precisión, el límite de detección y la reactividad cruzada.

¡Error! Fuente de referencia no encontrada. La siguiente tabla contiene la lista de cepas relevantes para cada microorganismo y la justificación de la selección.

Justificación para la selección de cepas para pruebas de inclusión:

Marcador	Descripción	Cepa	Proveedor	Racional
Zika	Linaje asiático	PRVABC59 (KU501215)	Vircell	Los linajes asiáticos y africanos son los linajes reconocidos del virus Zika. El linaje asiático está relacionado con los casos de Zika en el hemisferio occidental desde que se informaron los primeros casos de Zika fuera de África o Asia en 2014. (Relich & Loeffelholz, 2017)
	Africano	MR-766 (KX377335.1)	Vircell	
Chikungunya	Chikungunya	S27 Petersfield	Vircell	La cepa R91064 es la más relevante ya que deriva del linaje ECSA. (Silva & Dermody, 2017). S27 Petersfield es un linaje africano (NCBI, 2019)
	CHIKV	R80422 R91064	Zeptomatrix PEI(Instituto Paul Ehrlich)	



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Dengue	Dengue T1	Hawai 70000809 UIS 998	Vircell ATCC BEI Resources	La evolución del dengue es compleja. Algunos estudios sugirieron que el linaje americano de genotipos de DENV-2 y DENV-3 es menos virulento que el linaje asiático de DENV-2 y DENV-3 (Wilder-Smith & Gubler, 2008). No hay una gran variedad de cepas comercialmente disponibles para el dengue tipos 1-4
	Dengue T2	Nueva Guinea C	Vircell Zeptomatrix BEI Resources	
	Dengue T3	H87 DENV- 3/US/BID- V1043/2006	Vircell BEI Resources	
	Dengue T4	H241 UIS 497	Vircell BEI Resources	

Resultados:

Logix Smart™ ZDC puede detectar todas las cepas enumeradas en la Tabla anterior, si la concentración de la muestra está al menos en el límite de detección establecido para cada marcador. Se estableció un LoD para estas cepas. Ninguno de los LoD establecidos para una cepa está a más de un orden de magnitud de las otras cepas del mismo objetivo (Zika, dengue o Chikungunya).

Conclusión:

Logix Smart™ ZDC puede detectar todas las cepas propuestas para la prueba, en la concentración específica del límite de detección o por encima del límite de detección para ese marcador. Estas cepas son las cepas más relevantes en los mercados objetivos del producto.

14.4.2 Reactividad cruzada: Exclusividad

La especificidad analítica se evaluó en términos de reactividad cruzada para la inclusión, la exclusividad y las sustancias que interfieren.

Al realizar pruebas de exclusividad, se probaron los principales microorganismos con reacción cruzada para garantizar que la presencia de otras coinfecciones no interfiera con el rendimiento de Logix Smart™ ZDC.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Los estudios de exclusividad verificaron que el kit Logix Smart™ ZDC no tiene reacción cruzada con otros patógenos que pueden causar enfermedades febriles y erupciones cutáneas como el zika, el dengue o el Chikungunya, que presentan síntomas similares a la fiebre del Nilo Occidental, la fiebre amarilla y la encefalitis japonesa. Además, los marcadores de Zika, dengue y Chikungunya no deberían reaccionar entre sí. Una prueba de alta especificidad que permita diferenciar enfermedades con similar expresión clínica es fundamental para el manejo temprano del paciente.

Descripción de las pruebas

El kit de prueba Logix Smart™ ZDC se probó contra múltiples organismos relevantes en una prueba húmeda. Los organismos no objetivo que se usaron se enumeran en la tabla.

Muestras negativas constituidas por el material genético del microorganismo no diana. Muestras positivas constituidas por el material genético del microorganismo no diana más el material genético diana de Zika, dengue y Chikungunya. El material genético del organismo no objetivo se añadió a una concentración de 10.000 copias/reacción, tanto en las muestras positivas como en las negativas. Las muestras artificiales positivas se enriquecieron con una mezcla de los siguientes materiales: Vircell RNA controla Zika (linaje asiático), Chikungunya y dengue (tipos 1-4) en las siguientes concentraciones: 1000 copias/μl ZIKV, 1000 copias/μl CHIKV, y 500 copias/μl de cada tipo de DENV (1-4). Estas muestras positivas se obtuvieron mediante una dilución 1:5 de mezcla ZDC positiva: matriz de muestra con material genético del organismo no objetivo.

Criterios de aceptación:

No debe haber amplificación con:

- ADN/ARN que no es del Zika en el canal del Zika (canal verde);
- ADN/ARN que no es del dengue en el canal del dengue (canal amarillo);
- ADN/ARN no Chikungunya en el canal Chikungunya (canal rojo).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

En presencia de ARN del Zika, el ADN/ARN que no es del Zika no debe inhibir la amplificación en el canal verde.

En presencia de ARN del dengue, el ADN/ARN que no es del dengue no debe inhibir la amplificación en el canal amarillo.

En presencia de ARN de Chikungunya, el ADN/ARN que no es de Chikungunya no debe inhibir la amplificación en el canal rojo.

Resultados

La siguiente tabla contiene los resultados de las corridas para muestras negativas y positivas.

Resultados de Logix Smart™ para exclusividad (prueba húmeda)

Organismos no objetivo	Muestras Positivas			Muestras Negativas		
	ZIKV	CHIKV	DENV	ZIKV	CHIKV	DENV
B. burgdorferi	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Virus de Epstein Barr	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Influenza A H3	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Influenza A H5	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Influenza A H1N1	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Influenza A H1	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Influenza B	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Sarampión	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Virus del Nilo Occidental	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Virus Este Equino Enc.	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Virus St Louis Enc.	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Virus de la varicela zoster	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
TBEV	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Mezcla de zika, dengue y Chikungunya	N/A	N/A	N/A	Positivo	Positivo	Positivo
PC	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Extracto negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

No hubo falsos positivos en ninguna de las muestras negativas. Además, la presencia del material genético no objetivo no inhibió la amplificación de ninguno de los objetivos.

El análisis in-silico se realizó para verificar que no existe homología para los microorganismos relevantes con los CoPrimers™ en el Logix Smart™ ZDC donde no había un material de referencia BSL-2 que pudiera adquirirse para realizar una prueba húmeda. Para estos microorganismos, el análisis in-silico se realizó utilizando BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) en bases de datos genéticas disponibles.

Resumen del análisis in-silico

Microorganismo	Fecha de análisis	Resultado
Virus Lassa (LASV)	09-AUG-2018 for ZIKV 16-OCT-2018 for DENV1-4 and CHIKV	Sin coincidencia
Leptospira	09-AGO-2018 por el ZIKV 16-OCTUBRE-2018 para DENV1- 4 y CHIKV	Sin coincidencia
Rickettsiales	09-AGO-2018 por el ZIKV 16-OCTUBRE-2018 para DENV1- 4 y CHIKV	Sin coincidencia
Virus Spondweni (SPOV)	09-AGO-2018 por el ZIKV 16-OCTUBRE-2018 para DENV1- 4 y CHIKV	4 cepas mostraron coincidencia con al menos 3

El análisis in-silico mostró una coincidencia con 4 cepas del Virus Spondweni (SPOV), en los dos CoPrimers inversos para el virus Zika; sin embargo, cada cepa compatible tiene al menos tres discrepancias con los CoPrimers, lo que no es termodinámicamente favorable y probablemente no daría lugar a una amplificación. Además, no hay coincidencia con el CoPrimer directo, que es donde se genera la señal y, por lo tanto, no se amplificaría exponencialmente ni produciría señal.

Conclusión

Los resultados sugieren que Logix Smart™ ZDC no presenta reacciones cruzadas con ninguno de los organismos no objetivo que se probaron en la prueba húmeda o



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

en el análisis in silico. Las muestras negativas no arrojaron ningún falso positivo. Las muestras positivas en presencia de material genético de microorganismos no objetivo tampoco redujeron la capacidad de la prueba Logix Smart™ ZDC para producir resultados positivos.

14.4.3. Reactividad Cruzada: Sustancias de Interferencia

Se evalúa la posible interferencia de componentes endógenos a la muestra del paciente utilizada para probar y detectar los microorganismos objetivo con la prueba Logix Smart™ ZDC.

Descripción de las pruebas

Cada sustancia que interfiere se evaluó en su concentración potencialmente más alta (denominada 1X o "el peor de los casos"), pero también incluyeron concentraciones de 0,5X y 2X para proporcionar información adicional sobre el impacto de estas sustancias cuando se alcanza la variabilidad de la pureza con diferentes métodos de extracción.

Tenga en cuenta que la mayoría de las sustancias de la muestra que podrían interferir con la PCR se eliminan durante el protocolo de extracción. El uso de diferentes concentraciones por debajo y por encima del límite de detección intenta imitar la situación en la que los pasos de lavado de extracción se realizaron de forma deficiente.

Se analizaron sustancias potencialmente interferentes relevantes en muestras artificiales tanto positivas como negativas. El propósito era verificar que las sustancias no condujeran a falsos negativos o falsos positivos. Según los resultados de pruebas anteriores, ciertas muestras se analizaron añadiéndoles una sustancia de interferencia y material de muestra "positivo", antes de la extracción o después de la extracción.

En la siguiente tabla se enumeran las sustancias de interferencia que se probaron, el punto en el que se agregaron y las concentraciones a las que se agregaron.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Momento y concentración de picos de sustancias que interfieren

Material	Concentración de sustancia que interfiere después de la extracción	Concentración de la sustancia que interfiere antes de la extracción
Albúmina	0.5X, 1X	2X, 1X
Hemoglobina	0.25X, 0.5X	0.25X, 0.5X, 1X
Citrato de sodio	0.5X, 1X	1X, 2X
Bilirrubina	0.5X, 1X	-
Colesterol	0.5X, 1X	-
EDTA	0.5X, 1X	-
gDNA	0.5X, 1X	-
Lípidos	0.5X, 1X	-

Las muestras positivas que se enriquecieron con los siguientes materiales de referencia después de la extracción en concentraciones: 1500 copias/muestra de Zika, 1000 copias/muestra de virus Chikungunya y 15 UFP/muestra para cada tipo de dengue (1-4). Las muestras positivas que se enriquecieron antes de la extracción a las siguientes concentraciones: 1000 copias/ μ l de ZIKV de linaje asiático, 1000 copias/ μ l de CHIKV y 500 copias/ μ l de cada tipo de DENV (1-4)

Resultados:

La Tabla a continuación muestra los resultados de las sustancias de interferencia enriquecidas después de la extracción, y la siguiente muestra las sustancias de interferencia enriquecidas antes de la extracción. De los datos presentados, ninguna de las sustancias interferentes probadas mostró amplificación en ninguno de los canales monitoreados (ZIKV, DENV y CHIKV), si hubo alguna amplificación, habría sido un falso positivo.

Las muestras positivas enriquecidas después de la extracción mostraron una inhibición causada tanto por la hemoglobina como por el citrato de sodio. Este evento coincide con resultados similares obtenidos con estudios de rendimiento para Logix Smart™ ZIKX (ZIKV-K-004). Cuando estas muestras se enriquecieron antes de la



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

extracción, no hubo una reducción en el rendimiento, lo que también coincidió con los resultados encontrados para el rendimiento ZIKV-K-004.

Resultados de las pruebas de sustancias que interfieren: posterior a la extracción

Cq medio	ZIKV		CHIKV		DENV	
	Negativo (Cq)	Positivo (Cq)	Negativo (Cq)	Positivo (Cq)	Negativo (Cq)	Positivo (Cq)
PC	35.77	29.58	27.25	24.29	42.25	39.53
Mezcla de zika, dengue y Chikungunya	-	34.23	-	26.92	-	40.76
Albúmina 1X	0	40.30	0	25.84	0	43.73
Albúmina 0.5X	0	38.30	0	26.04	0	42.30
Bilirrubina 1X	0	34.30	0	26.37	0	40.15
Bilirrubina 0.5X	0	34.46	0	26.60	0	40.69
Colesterol 1X	0	34.80	0	26.60	0	41.64
Colesterol 0.5X	0	34.12	0	26.61	0	41.22
EDTA 1X	0	34.14	0	26.62	0	41.40
EDTA 0.5X	0	34.86	0	26.91	0	41.72
gDNA 1X	0	34.77	0	26.62	0	41.17
gDNA 0.5X	0	34.49	0	26.72	0	41.30
Hemoglobina 0.5X	0	0	0	0	0	0
Hemoglobina 0.25X	0	0	0	39.04	0	0
Lípidos 1X	0	34.15	0	26.67	0	41.08
Lípidos 0.5X	0	34.58	0	26.83	0	42.20
Citrato de sodio 1X	0	0	0	0	0	0
Citrato de sodio 0.5X	0	38.59	0	28.13	0	0
Extracto negativo	0	0	0	0	0	0


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Resultados de las pruebas de sustancias que interfieren: preextracción enriquecida

Cq medio	ZIKV		CHIKV		DENV	
	Negativo (Cq)	Positivo (Cq)	Negativo (Cq)	Positivo (Cq)	Negativo (Cq)	Positivo (Cq)
PC	29.26	30.02	26.98	24.89	42.25	39.30
mezcla ZDC	-	37.42	-	27.71	-	38.92
Albúmina 2X	0	30.80	0	32.05	0	27.62
Albúmina 1X	0	32.23	0	32.70	0	28.81
Hemoglobina 1X	0	34.13	0	32.86	0	24.67
Hemoglobina 0.5X	0	32.69	0	32.86	0	29.07
Hemoglobina 0.25X	0	34.59	0	35.68	0	33.64
Citrato de sodio 2X	0	33.93	0	32.10	0	28.36
Citrato de sodio 1X	0	34.08	0	35.79	0	33.96
Extracto negativo	0	0	0	0	0	0

Conclusión

Los resultados sugieren que la mayoría de las sustancias "interferentes" analizadas no afectarán el rendimiento de la prueba. En todos los casos, las sustancias no promovieron la amplificación, lo que conduciría a un falso positivo de hemoglobina y citrato de sodio enriquecidos después de la extracción, redujeron el rendimiento de Logix Smart ZDC de tal manera que 0.5X no mostró amplificación y 0.25X mostró una posterior amplificación con el Chikungunya.

Estos resultados ilustran cuán importante es el paso de lavado en el proceso de extracción, ya que una pequeña cantidad de hemoglobina o citrato de sodio afectará la capacidad de Logix Smart ZDC para producir datos confiables.

Sin embargo, la hemoglobina y el citrato de sodio cuando se enriquecieron antes de la extracción no mostraron reducción en el rendimiento. El resultado sugiere que el proceso de extracción pudo eliminar la sustancia, también coincide con los resultados anteriores encontrados con el rendimiento ZIKV-K-004.

La heparina no se probó con Logix Smart ZDC debido a los resultados inhibidos observados para Logix Smart™ ZIKV (ZIKV-K-004) y su estado como un conocido inhibidor de PCR. Es fundamental advertir en las instrucciones de uso y en cualquier




 Bioq. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

otro material relevante que las muestras de pacientes que se expongan a la heparina, o que hayan sido recolectadas en un tubo heparinizado, no deben analizarse en ninguna prueba de ácido nucleico mediante tecnología PCR. En su lugar, se debe recolectar y usar correctamente una muestra de un paciente nuevo para la prueba.

14.5. Precisión

La precisión de la medición se evaluó en términos de Precisión Intermedia, que incluye características tanto de Repetibilidad como de Reproducibilidad en un solo ejercicio. El diseño del experimento se basó en el estudio de un solo sitio, descrito en EP05-A3, y demostrará que la prueba puede producir resultados consistentes cuando se analizan muestras repetidamente. Además, también medirán la incertidumbre del método de prueba. Este estudio de precisión en un solo sitio establece la precisión comparando los resultados entre días, lotes fabricados, termociclador utilizado y ejecuciones, y el rendimiento general. A continuación se incluye una descripción de las muestras utilizadas, la estimación de la repetibilidad expresada como desviación estándar y coeficiente de varianza, y la estimación de la precisión dentro del laboratorio.

Descripción de la prueba

Debido a limitaciones de tiempo, el diseño experimental estándar de 20 x 2 x 2 de 20 días de pruebas, con dos ejecuciones por día y dos réplicas por muestra, fue reemplazado por la siguiente configuración: 10 días de pruebas, con 4 ejecuciones por día, y dos réplicas por muestra. Cada muestra constaba de una concentración [NORMAL] y [BAJA], que era de aproximadamente el 99 % y el 95 % de tasa de detección, respectivamente, según cada objetivo. La Tabla siguiente muestra la concentración de cada uno de los ARN diana que se utilizaron en los experimentos de precisión.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Concentración de material de referencia utilizada para experimentos de precisión

Material de referencia	Fabricante	[Normal]	[Bajo]
Virus Zika (linaje asiático)	Vircell	70 copias/ μ L	40 copias/ μ L
Virus del dengue tipo 1	IDT	150 copias/ μ L	100 copias/ μ L
Virus del dengue tipo 2	Vircell	150 copias/ μ L	110 copias/ μ L
Virus del dengue tipo 3	Vircell	100 copias/ μ L	70 copias/ μ L
Virus del dengue tipo 4	Vircell	600 copias/ μ L	350 copias/ μ L
Virus Chikunguña	Vircell	5 copias/ μ L	3 copias/ μ L
Mezcla ZIKV/DENV/CHIKV			
Virus Zika (linaje asiático)	Vircell	70 copias/ μ L	40 copias/ μ L
Virus del dengue tipo 1	IDT	150 copias/ μ L	100 copias/ μ L
Virus del dengue tipo 2	Vircell	150 copias/ μ L	110 copias/ μ L
Virus del dengue tipo 3	Vircell	100 copias/ μ L	70 copias/ μ L
Virus del dengue tipo 4	Vircell	600 copias/ μ L	350 copias/ μ L
Virus Chikunguña	Vircell	5 copias/ μ L	3 copias/ μ L

Criterios de aceptación

Desviación estándar entre días, entre ensayos y lotes y precisión dentro del laboratorio $SD \leq 2,0$

El coeficiente de variación o CV% no puede ser superior al 5%.

El porcentaje de concordancia de muestras no puede ser inferior al 90% en cada cepa individualmente (concentraciones a considerar dentro del Límite de Detección).

El porcentaje global de acuerdo no puede ser inferior al 95% sobre los resultados generales.

Resultados

Los resultados se presentan para una precisión intermedia entre 10 días de prueba, con dos operadores, dos lotes de fabricación diferentes y cinco termocicladores CoDx Box; los termocicladores eran máquinas del mismo modelo. En la Tabla 4.11 se presenta un resultado combinado, como precisión general. Además, la Tabla 4.12 muestra los valores P resultantes después de realizar un ANOVA de un solo factor. El ANOVA se realizó sobre los datos analizados por día, operador, lote fabricado y termociclador utilizado. Los valores de p en rojo están por debajo de 0,05.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGdanovich
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Descripción de muestra artificial	Concentración	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10
Canal Verde											
ZIKV	[Normal]	36.45	37.50	37.37	36.95	37.13	36.81	36.00	37.36	37.79	36.82
	[Bajo]	36.83	37.53	37.52	37.33	37.31	38.18	37.26	38.44	39.60	36.95
Mezcla de Zika, dengue y chikungunya	[Normal]	36.60	36.04	37.22	37.44	36.33	37.02	36.23	37.10	37.26	36.82
	[Bajo]	36.13	36.83	36.82	36.80	38.59	36.60	36.05	39.27	37.95	37.63
Canal Amarillo											
D1	[Normal]	34.79	34.85	34.56	35.87	35.06	34.28	34.40	35.09	36.75	34.62
	[Bajo]	34.75	36.53	36.09	35.83	36.02	36.26	35.95	37.77	35.62	35.54
D2	[Normal]	37.02	36.34	36.03	36.13	36.49	36.33	37.11	36.39	36.83	36.16
	[Bajo]	36.61	35.92	35.74	35.67	35.92	36.03	37.14	35.84	36.07	35.40
D3	[Normal]	37.84	37.39	36.74	36.88	38.27	36.94	38.47	37.39	38.07	36.75
	[Bajo]	39.06	38.44	38.31	38.38	38.31	38.66	39.95	38.84	39.07	39.08
D4	[Normal]	38.20	39.74	38.57	38.13	39.35	39.06	38.48	39.46	38.75	38.23
	[Bajo]	37.28	36.64	35.81	36.69	36.36	36.69	38.58	36.72	36.71	36.03
Mezcla de Zika, dengue, chikungunya	[Normal]	34.13	32.96	32.79	32.53	32.92	32.55	33.31	33.36	33.32	32.63
	[Bajo]	34.71	33.35	33.38	33.42	34.77	33.54	34.86	36.13	33.82	34.05
Canal Rojo											
CHIKV	[Normal]	35.82	35.80	36.13	36.24	35.17	36.85	35.94	36.17	35.20	35.57
	[Bajo]	37.77	37.59	37.04	36.74	37.25	36.78	37.33	38.27	37.09	37.27
Mezcla de Zika, dengue y chikungunya	[Normal]	35.40	35.88	35.92	36.24	35.35	35.40	35.74	36.58	35.41	35.16
	[Bajo]	37.88	36.87	37.10	36.24	37.08	37.33	37.30	37.50	37.37	37.03

Precisión intermedia: entre operadores

Descripción de muestra artificial	Concentración	Cq Promedio	SD	Rango de llamada	Rango de detección	CV%	Cq Promedio	SD	Rango de llamada	Rango de detección	CV%
Canal Verde											
		Operador 1					Operador 2				
ZIKV	[Normal]	37.12	1.50	39/40	97.50 %	4.05 %	36.92	1.43	38/40	95.00 %	3.87 %
	[Bajo]	37.98	2.01	35/40	87.50 %	5.28 %	37.50	1.33	35/40	87.50 %	3.56 %
ZDC-Zika	[Normal]	37.00	1.30	40/40	100%	3.52 %	36.61	1.46	37/40	92.50 %	4.00 %
	[Bajo]	37.56	2.17	36/40	90.00 %	5.77 %	36.90	1.26	36/40	90.00 %	3.42 %
Canal Amarillo											
D1	[Normal]	35.34	2.60	40/40	100%	7.35 %	34.71	0.81	40/40	100%	2.33 %
	[Bajo]	36.23	1.99	39/40	97.50 %	5.49 %	36.03	0.86	39/40	97.50 %	2.37 %
D2	[Normal]	36.84	1.44	40/40	100%	3.91 %	36.12	1.01	40/40	100%	2.80 %
	[Bajo]	36.30	1.60	40/40	100%	4.40 %	35.76	0.97	40/40	100%	2.70 %
D3	[Normal]	37.62	1.39	40/40	100%	3.70 %	37.33	1.23	40/40	100%	3.28 %
	[Bajo]	38.85	1.55	40/40	100%	3.99 %	38.77	1.42	40/40	100%	3.66 %

Bioq. Aida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

D4	[Normal]	38.98	1.84	40/40	100%	4.71 %	38.62	1.44	40/40	100%	3.73 %
	[Bajo]	36.70	1.22	40/40	100%	3.33 %	36.40	1.24	40/40	100%	3.41 %
ZDC-Dengue	[Normal]	33.30	1.21	40/40	100%	3.62 %	32.80	0.64	40/40	100%	1.95 %
	[Bajo]	34.54	2.09	40/40	100%	6.04 %	33.86	1.84	40/40	100%	5.42 %
Canal Rojo											
CHIKV	[Normal]	35.79	1.11	38/40	95.00 %	3.11 %	35.98	1.40	38/40	95.00 %	3.90 %
	[Bajo]	37.60	1.47	38/40	95.00 %	3.89 %	37.01	1.01	34/40	85.00 %	2.73 %
ZDC-Chikungunya	[Normal]	35.82	0.87	40/40	100%	2.43 %	35.60	1.17	40/40	100%	3.27 %
	[Bajo]	37.35	0.79	39/40	97.50 %	2.11 %	37.12	0.64	35/40	87.50 %	1.72 %

Precisión intermedia: entre lotes

Descripción de muestra artificial	Concentración	Cq Promedio	SD	Rango de llamada	Rango de detección	CV%	Cq Promedio	SD	Rango de llamada	Rango de detección	CV%
Canal Verde											
Lot #075											
ZIKV	[Normal]	37.27	1.43	39/40	97.5 %	3.85 %	36.77	1.46	38/40	95.0%	3.97 %
	[Bajo]	37.98	1.96	33/40	82.5 %	5.17 %	37.53	1.44	37/40	92.5%	3.83 %
ZDC-Zika	[Normal]	36.56	1.32	38/40	95.0 %	3.62 %	37.06	1.42	39/40	97.5%	3.83 %
	[Bajo]	36.93	1.80	34/40	85.0 %	4.87 %	37.49	1.77	38/40	95.0%	4.71 %
Canal Verde											
Lot #076											
D1	[Normal]	35.26	2.48	40/40	100%	7.02 %	34.78	1.16	40/40	100%	3.34 %
	[Bajo]	35.94	1.32	39/40	97.5 %	3.67 %	36.32	1.70	39/40	97.5%	4.67 %
D2	[Normal]	36.65	1.32	40/40	100%	3.59 %	36.32	1.26	40/40	100%	3.46 %
	[Bajo]	36.09	1.16	40/40	100%	3.22 %	35.97	1.51	40/40	100%	4.19 %
D3	[Normal]	37.55	1.41	40/40	100%	3.76 %	37.40	1.21	40/40	100%	3.25 %
	[Bajo]	38.90	1.27	40/40	100%	3.27 %	38.72	1.67	40/40	100%	4.31 %
D4	[Normal]	39.01	1.75	40/40	100%	4.49 %	38.58	1.54	40/40	100%	3.98 %
	[Bajo]	36.50	1.34	40/40	100%	3.66 %	36.60	1.14	40/40	100%	3.10 %
ZDC-Dengue	[Normal]	33.24	1.17	40/40	100%	3.52 %	32.86	0.74	40/40	100%	2.25 %
	[Bajo]	34.26	1.60	40/40	100%	4.68 %	34.14	2.32	40/40	100%	6.79 %
Canal Verde											
CHIKV	[Normal]	35.81	1.41	38/40	95.00 %	3.94 %	35.95 %	1.11	38/40	95.0%	3.07 %

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	[Bajo]	37.30	1.50	36/40	90.00 %	4.04 %	37.34 %	1.07	36/40	90.0%	2.86 %
ZDC- Chikungunya	[Normal]	35.70	1.05	40/40	100%	2.94 %	35.72 %	1.02	40/40	100%	2.85 %
	[Bajo]	37.20	0.81	37/40	92.50 %	2.17 %	37.29 %	0.64	37/40	92.5%	1.72 %

Precisión intermedia de Termocicladores (CoDx Box 1-3)

Descripción de muestra artificial	Concentración	Cq Promedio	SD	Rango de detección	CV%	Cq Promedio	SD	Rango de detección	CV%	Cq Promedio	SD	Rango de detección	CV%
Canal Verde													
		CoDx Box 1				Box 2				CoDx Box 3			
ZIKV	[Normal]	36.71	1.61	93.75 %	4.43 %	36.71	1.12	93.75 %	3.21 %	37.14	1.31	93.75 %	3.52 %
	[Bajo]	37.75	0.87	93.75 %	2.34 %	37.76	1.86	81.25 %	4.91 %	37.44	1.87	81.25 %	4.92 %
ZDC-Zika	[Normal]	36.42	1.05	93.75 %	2.90 %	36.42	1.09	100%	2.99 %	37.14	1.15	93.75 %	3.11 %
	[Bajo]	36.39	1.26	87.50 %	3.42 %	36.39	0.98	93.75 %	2.68 %	37.32	2.64	93.75 %	7.07 %
Canal Amarillo													
D1	[Normal]	34.78	0.67	100%	1.94 %	34.79	0.77	100%	2.22 %	34.71	1.36	100%	3.91 %
	[Bajo]	35.89	0.89	100%	2.47 %	35.89	0.69	93.75 %	1.93 %	37.04	2.26	100%	6.09 %
D2	[Normal]	36.08	1.57	100%	4.27 %	36.09	0.77	100%	2.12 %	36.65	1.30	100%	3.54 %
	[Bajo]	35.77	2.18	100%	6.00 %	35.77	0.51	100%	1.42 %	36.33	1.34	100%	3.69 %
D3	[Normal]	37.29	1.50	100%	3.97 %	37.29	0.86	100%	2.31 %	37.48	1.48	100%	3.95 %
	[Bajo]	38.88	2.09	100%	5.33 %	38.89	1.12	100%	2.87 %	38.97	1.60	100%	4.10 %
D4	[Normal]	38.65	1.49	100%	3.83 %	38.65	1.83	100%	4.73 %	38.95	1.45	100%	3.73 %
	[Bajo]	36.40	1.54	100%	4.23 %	36.41	1.02	100%	2.80 %	36.99	1.61	100%	4.35 %
ZDC-Dengue	[Normal]	33.41	0.83	100%	2.51 %	33.42	1.58	100%	4.74 %	32.88	0.90	100%	2.75 %
	[Bajo]	34.43	2.06	100%	6.06 %	34.44	2.24	100%	6.51 %	35.00	2.85	100%	8.16 %
Canal Rojo													
CHIKV	[Normal]	35.91	1.11	100%	3.12 %	35.91	0.96	100%	2.67 %	36.39	1.74	93.75 %	4.77 %
	[Bajo]	37.47	1.02	87.50 %	2.74 %	37.48	0.72	81.25 %	1.91 %	37.56	1.76	93.75 %	4.67 %
ZDC- Chikungunya	[Normal]	35.69	0.92	100%	2.60 %	35.69	0.82	100%	2.30 %	35.89	1.32	100%	3.68 %
	[Bajo]	37.24	0.55	93.75 %	1.48 %	37.24	0.67	93.75 %	1.81 %	37.51	0.76	93.75 %	2.02 %

Precisión intermedia: entre termocicladores (CoDx Box 4-5)



Bioq. Alicia Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Descripción de muestra artificial	Concentración	Cq Promedio	SD	Rango de detección	CV%	Cq Promedio	SD	Rango de detección	CV%
Canal Verde									
CoDx Box 4					Box 5				
ZIKV	[Normal]	37.58	1.47	100%	3.91%	37.18	1.58	100%	4.25%
	[Bajo]	38.28	2.30	87.50%	6.00%	37.58	1.43	93.75%	3.80%
ZDC-Zika	[Normal]	37.10	1.58	93.75%	4.27%	37.15	1.78	100%	4.79%
	[Bajo]	37.82	1.54	75.00%	4.08%	37.86	1.76	100%	4.64%
Canal Amarillo									
D1	[Normal]	36.37	3.48	100%	9.57%	34.79	1.52	100%	4.36%
	[Bajo]	35.98	1.75	100%	4.86%	35.64	1.18	93.75%	3.32%
D2	[Normal]	36.56	1.40	100%	3.83%	36.33	1.32	100%	3.62%
	[Bajo]	36.06	0.99	100%	2.74%	35.59	1.05	100%	2.95%
D3	[Normal]	37.54	1.26	100%	3.36%	37.18	1.40	100%	3.77%
	[Bajo]	38.62	1.44	100%	3.72%	38.38	0.91	100%	2.38%
D4	[Normal]	39.14	1.80	100%	4.60%	38.31	1.72	100%	4.50%
	[Bajo]	36.65	1.16	100%	3.18%	36.26	0.56	100%	1.53%
ZDC-Dengue	[Normal]	33.11	0.76	100%	2.31%	32.76	0.56	100%	1.71%
	[Bajo]	33.54	0.75	100%	2.22%	34.11	1.20	100%	3.52%
Canal Rojo									
CHIKV	[Normal]	35.91	1.18	93.75%	3.30%	35.54	1.20	87.50%	3.37%
	[Bajo]	37.39	1.55	93.75%	4.15%	37.10	1.19	93.75%	3.22%
ZDC- Chikungunya	[Normal]	35.93	1.06	100%	2.95%	35.80	0.92	100%	2.57%
	[Bajo]	37.30	0.96	81.25%	2.57%	37.18	0.67	100%	1.80%

Resultados generales de precisión

Descripción de muestra artificial	Concentración	Cq Promedio	SD	Rango de llamada	Rango de detección	CV%
Canal Verde						
ZIKV	[Normal]	37.02	1.46	77/80	96.25%	3.94%
	[Bajo]	37.74	1.71	70/80	87.50%	4.52%
ZDC-Zika	[Normal]	36.81	1.39	77/80	96.25%	3.77%
	[Bajo]	37.23	1.79	72/80	90.00%	4.81%
Canal Amarillo						
D1	[Normal]	35.02	1.94	80/80	100%	5.53%
	[Bajo]	36.13	1.52	78/80	97.50%	4.22%
D2	[Normal]	36.48	1.29	80/80	100%	3.53%
	[Bajo]	36.03	1.34	80/80	100%	3.71%
D3	[Normal]	37.47	1.31	80/80	100%	3.50%
	[Bajo]	38.81	1.48	80/80	100%	3.80%
D4	[Normal]	38.80	1.65	80/80	100%	4.25%
	[Bajo]	36.55	1.23	80/80	100%	3.37%
ZDC-Dengue	[Normal]	33.05	0.99	80/80	100%	3.00%
	[Bajo]	34.20	1.98	80/80	100%	5.79%
Canal Rojo						
CHIKV	[Normal]	35.88	1.26	76/80	95.00%	3.51%
	[Bajo]	37.32	1.30	72/80	90.00%	3.47%
ZDC-Chikungunya	[Normal]	35.71	1.028	80/80	100%	2.88%
	[Bajo]	37.24	0.726	74/80	92.50%	1.95%


 Bco. Alicia Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Valores P de ANOVA de factor único

Descripción de muestra artificial	Concentración	Valor P (días)	Valor P (operadores)	Valor P (lotes)	Valor P (termocicladores)
Canal Verde					
ZIKV	[Normal]	0.41	0.58	0.14	0.23
	[Bajo]	0.05	0.24	0.27	0.49
ZDC-Zika	[Normal]	0.50	0.21	0.11	0.18
	[Bajo]	0.01	0.12	0.19	0.11
Canal Amarillo					
D1	[Normal]	0.28	0.15	0.27	0.04
	[Bajo]	0.16	0.579	0.27	0.10
D2	[Normal]	0.74	0.011	0.25	0.58
	[Bajo]	0.35	0.070	0.68	0.26
D3	[Normal]	0.03	0.334	0.62	0.63
	[Bajo]	0.49	0.805	0.58	0.59
D4	[Normal]	0.47	0.331	0.25	0.66
	[Bajo]	0.57	0.278	0.70	0.51
ZDC-Dengue	[Normal]	0.03	0.021	0.08	0.39
	[Bajo]	0.08	0.125	0.79	0.30
Canal Rojo					
CHIKV	[Normal]	0.25	0.502	0.62	0.40
	[Bajo]	0.46	0.055	0.88	0.81
ZDC-Chikungunya	[Normal]	0.11	0.340	0.91	0.31
	[Bajo]	0.20	0.174	0.60	0.41

Conclusión

Los datos sugieren que la fuente más común de variación en los datos es el día en que se ejecutan. Hay cuatro valores de p, para el análisis ANOVA de días, que fueron menores que el nivel de significancia (α) de 0,05. Además, dos valores p para operadores y un valor p para termocicladores. El único tipo de muestra que tuvo más de un valor p en más de un análisis ANOVA fue el control positivo mixto ZDC [Normal] para dengue, tanto para los días como para los operadores. No hubo tendencias en los datos, lo que puede sugerir que los valores de p por debajo del nivel de significancia son el resultado de una variabilidad normal.

14.6. Estabilidad

El kit Logix Smart™ ZDC no ha sido probado por motivos de estabilidad. Los estudios de estabilidad para ZDC-K-001 se agregarán al protocolo actual en curso para estudios de estabilidad en CoDiagnostics. En este documento se analizará la información sobre los protocolos con la descripción de la prueba, los criterios de aceptación, el plazo y los resultados.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Los protocolos de estudios de estabilidad más actuales están en ejecución y el kit se ha agregado a los estudios actuales de la siguiente manera: - - -

VR- PRO-STB-03: Protocolo de Verificación de Estudios de Estabilidad de Vida Útil. Esto incluye estudios en tiempo real y acelerados.

VR-PRO-STB-04: Protocolo de verificación para el estudio de estabilidad en uso

VR-PRO-STB-05: Protocolo de Verificación de Estabilidad del Transporte.

Vida útil declarada

Actualmente, el kit Logix Smart™ ZDC se ofrece como un producto para uso exclusivo en investigación y se le asigna una fecha de vencimiento de 1 año como fecha de vencimiento estandarizada para los productos de codiagnóstico para uso exclusivo en investigación.

Como se describió en la sección anterior, el objetivo del Protocolo VR-PRO-STB-03 Protocolo de Verificación para Estudios de Estabilidad de Vida Útil es estudiar la estabilidad para soportar la fecha de vencimiento de 1 año actualmente utilizada para el ZDC-K-001, y ampliar la fecha de vencimiento, si está justificado.

El protocolo VR-PRO-STB-04: Protocolo de verificación para el estudio de estabilidad en uso, incluido Logix Smart™ ZDC (ZDC-K-001), tiene un apéndice aprobado para incluir ZDC-K-001 en el protocolo de estabilidad en curso; aún no se han iniciado las pruebas debido a la finalización de los estudios de Calificación de las incubadoras adquiridas para la ejecución de los Estudios de Estabilidad, y a desviaciones encontradas en algunos de los equipos adquiridos para los estudios de estabilidad.

- a) Criterios de aceptación: El valor promedio de C_q para cada concentración, media y baja, no puede desviarse más de 2 DE (desviación estándar) del valor de C_q en el V_0 .
- b) Análisis de datos: Los resultados se reportan en tablas. ANOVA se utiliza para informar SD (desviación estándar) y CV% (coeficiente de varianza). Los datos de un punto de prueba deben compararse con cualquier otro punto de prueba y evaluación de desempeño para determinar la vida útil de un



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

producto. Se puede investigar cualquier desviación, pero en algunas ocasiones es necesario examinar los resultados del siguiente punto de prueba para emitir un resultado final de la investigación.

- c) Protocolo de pruebas de estabilidad: Las pruebas de estabilidad siguen el procedimiento "SOP-8212: Protocolo de pruebas de estabilidad". El procedimiento proporciona información sobre cómo preparar el análisis, incluida información sobre los controles internos y el material de referencia necesario, cómo recuperar la muestra del área de almacenamiento, cómo realizar el ensayo, cómo registrar e informar los datos y cómo realizar la prueba preliminar. Análisis que compara los resultados de puntos de prueba anteriores y notas/recomendaciones para el próximo punto de prueba. El estudio debe ser revisado y firmado por la gerencia.
- d) Conclusión: La emisión de un informe de estabilidad se realizará después de dos excursiones consecutivas al punto de prueba. La vida útil declarada será el tiempo equivalente al último punto de prueba dentro de los criterios de aceptación. Cada vez que se completen los resultados del Estudio de estabilidad acelerada, se emitirá un informe para el estudio acelerado y el material de empaque y etiquetado se actualizará de acuerdo. Cada vez que se finalicen los resultados de Estabilidad en Tiempo Real, se emitirá otro informe referente al Estudio de Estabilidad en Tiempo Real, y se considerarán los resultados del estudio acelerado para emitir un resultado concluyente. La fecha de caducidad del kit Logix Smart™ ZDC se actualizará en consecuencia, incluso si ya se ha realizado una revisión después de los resultados acelerados.

Estabilidad en uso

El estudio de estabilidad en uso, como se describe en la sección 5.2, se define mediante el número de protocolo VR PRO-STB-04 en el Protocolo de verificación para el estudio de estabilidad en uso.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Este protocolo de estudio propone dos situaciones diferentes: una cuando el producto se abre y se mantiene en refrigeración entre 2°C y 8°C, y la segunda situación cuando el producto se congela para su posterior reutilización.

La prueba post-refrigeración se realiza después de abrir un vial y probarlo siguiendo SOP-8212: Protocolo de prueba de estabilidad con posterior transferencia a refrigeración y prueba cada día hasta que se produzcan dos resultados consecutivos fuera de especificación.

La segunda situación se realiza como una continuidad de los estudios de vida útil en tiempo real, donde una muestra utilizada para el análisis V0 siguiendo el SOP-8212: Protocolo de prueba de estabilidad se congela nuevamente, luego se descongela después de una semana y se analiza nuevamente para la Semana 1 siguiendo el SOP 8212. : Protocolo de pruebas de estabilidad. Después de la prueba, el vial se congela nuevamente y se descongela para realizar la prueba en la Semana 2. Este ciclo se repite 10 veces o hasta que se encuentren dos resultados consecutivos fuera de las especificaciones.

Se siguen los mismos criterios de aceptación, métricas, procedimiento experimental, almacenamiento y estándares.

Se emite un informe al final del estudio que incluye las situaciones 1 y 2 en las que el vial se mantiene refrigerado después de cada uso y en las que el producto se prueba en ciclos de congelación y descongelación.

El propósito de esta prueba es proporcionar información en el empaque y etiquetado sobre los ciclos máximos de congelación/descongelación y establecer un período hasta que el producto pueda usarse y mantenerse en refrigeración después de abierto.

Estabilidad de envío

El estudio de estabilidad de envío, se define mediante el número de protocolo VR-PRO-STB-05 en el Protocolo de verificación para el estudio de transporte para productos de co-diagnóstico y se llevará a cabo siguiendo la norma ASTM D4169-16.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

La prueba será realizada por un tercero siguiendo la norma ISO 23640 Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro:

Evaluación de Estabilidad de reactivos de diagnóstico in vitro.

Número de protocolo VR-PRO-STB-05: Protocolo de verificación para el estudio de transporte recibió un apéndice para agregar Logix Smart™ ZDC (ZDC-K-001) al protocolo en curso aprobado el 3 de septiembre de 2018. El estudio determinará el efecto del transporte en sentido general ya que la prueba evaluará el movimiento y estado de las cajas y no la estabilidad del producto.

14.7. Precisión diagnóstica

Para verificar que la prueba Logix Smart™ ZDC es capaz de producir resultados que coincidan con el contenido real de la muestra que se está analizando, los resultados se presentarán como precisión diagnóstica.

Descripción de la prueba

Los datos utilizados en este experimento se tomaron de la precisión y el límite de las ejecuciones de detección. Se utilizaron casi todos los datos de precisión; sin embargo, en el cálculo de estas estadísticas solo se utilizaron datos en o cerca del LOD.

Criterios de aceptación

Resultados de sensibilidad y especificidad $\geq 90\%$, así como valores de Precisión, VPP, VPN y MCC superiores a 0,9.

Resultados

La siguiente tabla muestra los datos compilados de los experimentos de precisión y los datos LOD seleccionados. La tabla muestra el número total de resultados verdaderos negativos, falsos positivos, verdaderos positivos y falsos negativos. Los datos de LoD que se utilizaron fueron las diluciones en concentraciones en o cerca del LoD de ese objetivo, para evitar una



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Sesgo negativo en los datos.

Datos de muestra artificiales compilados

	Virus Zika				Dengue		Chikungunya	
	Suero	Plasma	Orina	LCR	Suero	Plasma	Suero	Plasma
Número de verdaderos negativos (TN)	518	1997	36	18	518	1997	518	1997
Número de falsos positivos (FP)	0	0	0	0	0	0	0	0
Número de verdaderos positivos (TP)	104	344	32	24	48	1184	96	452
452Número de falsos negativos (FN)	3	25	3	1	1	8	1	27

Los valores de la Tabla se utilizaron para calcular estadísticas relevantes para la precisión diagnóstica, la sensibilidad, la especificidad, la precisión, el valor predictivo positivo (VPP), el valor predictivo negativo (VPN) y el coeficiente de correlación de Matthews (MCC). Estos valores calculados se encuentran en la siguiente tabla.

Precisión diagnóstica a partir de muestras artificiales

	Virus Zika				Dengue		Chikungunya	
	Suero	Plasma	Orina	LCR	Suero	Plasma	Suero	Plasma
Sensibilidad	97.20%	93.22%	91.43%	96%	97.96%	99.33%	98.97%	94.36%
Especificidad	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Exactitud	1.00	0.99	0.96	0.98	1.00	1.00	1.00	0.99
PPV	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
NPV	0.99	0.99	0.92	0.95	1.00	1.00	1.00	0.99
MCC	0.98	0.96	0.92	0.95	0.99	0.99	0.99	0.96

Nota: PPV, Valor Predictivo Positivo; VPN, Valor Predictivo Negativo; MCC, coeficiente de correlación de Matthews




 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Conclusión

Los datos sugieren que el kit de prueba Logix Smart™ ZDC puede generar consistentemente resultados precisos a partir de una variedad de tipos de muestras y objetivos. Los resultados muestran sensibilidades superiores al 91 %, especificidades del 100 % en todos los ámbitos, valores de precisión de 0,96 o superiores, todos los valores de VPP de 1,00, valores de VPN de 0,92 o superiores y valores de MCC de 0,92 o superiores. Los resultados muestran que la sensibilidad del Zika es el objetivo más débil. Las iteraciones futuras de la prueba pueden funcionar para aumentar aún más la sensibilidad para todos los tipos de muestras al 95 % o más.

15. Indicación al consumidor

Ante cualquier duda o consulta comunicarse con las siguientes vías de contacto:

Teléfono: 011-4509-9000

E-mail: aalvarez@analytical.com



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: Analytical Technologies S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 59 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.04.09 11:53:37 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.04.09 11:53:38 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-003744-23-1

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

Expediente Nº 1-0047-3110-003744-23-1

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por Analytical Technologies S.A. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: Logix Smart ZDC (Zika Dengue Chikungunya)

Marca comercial: Co-Diagnostics

Modelos:
ZDC-K-001

Indicación/es de uso:

El kit Logix Smart™ ZDC es una prueba diagnóstica multiplex in vitro, basado en tecnología de reacción en cadena de polimerasa (PCR, del inglés, polymerase chain reaction), para la detección cualitativa del ácido

ribonucleico específico del virus del Zika (ZIKV), el virus del dengue tipos 1-4 (DENV), y el virus del chikungunya (CHIKV), específicamente en el suero o plasma, orina o líquido cefalorraquídeo (LCR).

Forma de presentación: Kits x 100 reacciones.

Contenido:

Cada kit Logix Smart ZDC (Zika Denge Chikungunya) consta de los siguientes componentes:

- Mezcla maestra lista para usar, con control interno para identificar una posible inhibición de la Reacción de Cadena de Polimerasa Cuantitativa (qPCR, por sus siglas en inglés, Quantitative Polymerase Chain Reaction), confirmar la integridad de los reactivos y verificar la calidad de la extracción de la muestra.
- Control Positivo (PC), para verificar el rendimiento de la mezcla maestra.
- Agua libre de nucleasas como control negativo, para verificar que la mezcla maestra no esté contaminada.

Período de vida útil: 1 año almacenado entre los -40 °C y -16 °C.

Nombre del fabricante:

Co-Diagnostics, Inc.

Lugar de elaboración:

2401 South Foothill Dr., Suite D, Salt Lake City, UT 84109, EEUU.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 2357-1 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

N° 1-0047-3110-003744-23-1

N° Identificadorio Trámite: 49777

AM