

## MODELO DE ROTULO e INSTRUCCIONES DE USO

Mu/fiZ'arge@ NeuroV I UIT  
PM 2900-5

DETx MOL S.A  
Registro de Producto para diagnóstico uso "in vitro"  
Disposición ANMAT Z198/2022 y 2674/99.



Diego Chouhy  
Responsable legal



Germán R. Perez  
Director Técnico

## RÓTULOS EXTERNOS:

1 –NOMBRE DEL PRODUCTO: **MultTargeW NeuroV I KIT**

2 –ESTABLECIMIENTO ELABORADOR, DOMICILIO LEGAL Y NOMBRE DEL DIRECTOR TÉCNICO:

**DETx MOL S.A.**

Juan Manuel de Rosas 950 –Rosario (CP 2000) –Argentina.

Teléfono: +54 (0341) 7352035

**Director Técnico:** Bioq. Germán R. Perez, PhD.

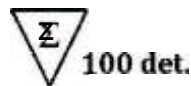
3 - AUTORIZADO POR ANMAT N° PM 2900-5.

4 - NÚMERO DE LOTE O PARTIDA:

**LOT**

5 - FECHA DE VENCIMIENTO

6 - CONSTITUCIÓN DEL EQUIPO (NÚMERO DE DETERMINACIONES POSIBLES)



7 - CONFORMACIÓN DEL EQUIPO (INDICACIÓN DE LAS UNIDADES MÉTRICAS)

**NVI-KIT-00 1.25**

1 x -• 56 pl	NVI—OLIGOMIX	(COD: NV1-OM-001.25)
1 x →56 jil	OLIGO—HSV1	(COD: NV1-H1-001.25)
1 x 56 Gil	OLIGO-HSV2	(COD: NVI-H2-001.25)
1 x →56 jil	OLIGO-VZV	(COD: NV1-VZ-001.25)
1 x 110 pl	MASTERMIX FP 5X	(COD: FPM-MM-001.25)
1 x 200 pl	NVI-CTRL POS	(COD: NV1-CP-001]
1 x 600 pl	ECD-CTRL INT	(COD: ECD-CI-001j
1 x 1500 él	AGUA DNAsa/RNAsa free	(COD: AT1-LAB-001)

**hIV1-KIT-001.50**

1 x 110 El	NVI-OLIGOMIX	(COD: NV1-OM-001.50)
1 x →110 El	OLIGO-HSV1	(COD: NV1-H1-001.50)
1 x →110 pl	OLIGO-HSV2	(COD: NV1-H2-001.50)
1 x →110 jil	OLÍGO-VZV	(COD: NV1-VZ-001.50)
1 x 220 pl	MASTERMIX FP 5X	tCOD: FPM-MM-001.50)
1 x 200 pl	NVI-CTRL POS	(COD: NV1-CP-001)
1 x 600 pl	ECD-CTRL INT	(COD: ECD-CI-001)
1 x 1500 pl	AGUA DNAsa/RNAsa free	(COD: ATI-LAB-001)

  
**Bioq. GERMAN PEREZ**  
 Director Técnico  
 DETx M L.S.A.

  
**DR. DIEGO CHOUHY**  
 Apoderado  
 DETx MOL S.A.

NV1-KIT-001.100

1 x 220 pl	NV1-OLIGOMIX	(COD: NV1-OM-001.100)
1 x →220 pl	OLIGO-HSV1	(COD: NV1-H1-001.100)
1 x →220 ll	OLIGO-HSV2	(COD: NV1-H2-001.100)
1 x →220 pl	OLIGO-VZV	(COD: NV1-VZ-001.100)
1 x 440 ji1	MASTERMIX FP SX	(COD: FPM-MM-001.100)
1 x 200 p1	NV1-CTRL POS	(COD: NV1-CP-001)
1 x 600 pl	ECD-CTRL INT	(COD: ECD-CI-001)
1 x 1500 Al	AGLiA DNAsa/RNAsa free	(COD: ATI-LAB-001)

8 - LEYENDA“USO DIAGNÓSTICO IN-VITRO”

9- DESCRIPCIÓN DE LA FINALIDAD DE USO

Método de diagnóstico In vitro para la detección cualitativa y simultánea de Virus Herpes Simplex tipo 1 (HSV1), Virus herpes Simplex tipo 2 (HSV2) y Virus Varicela-Zoster (VZV) en pacientes con sospecha de Infección y síntomas asociados a partir de muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR).

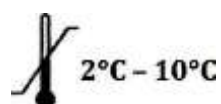
10 - DESCRIPCIÓN DE LAS PRECAUCIONES



11 - CONDICIONES DE CONSERVACIÓN

-20°C

12 - CONDICIONES DE TRANSPORTE



  
Blaq. GERMAN PEREZ  
Director Técnico  
DETx MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHAY  
Apoderado  
pEqc t40L5.R

## RÓTULOS INTERNOS

### 1 - NV1-OLIGOMIX

**NV1-OLIGOMIX**

**LOT** NV1-OM-aa.##

Agregar xxx pl de AGUA DNAsa/RNAsa free

mm.aa

**IVD**



-20°C



2°C - 10°C  
TRANSPORTE

### 2 —OLIGO-HSV1

**OLIGO- HSV1**

**LOT** NV1-H1-aa.##

Agregar xxx pl de AGUA DNAsa/RNAsa free



mm.aa

**IVD**



-20°C  
ALMACENAMIENTO



2°C - 10°C  
TRANSPORTE

  
Blaq. GERMAN PREC  
Director TGMico  
L

  
Dr. DIEGO CHOHII  
Apoderado

3 –OLIGO-HSV2

0 IGO S 2

NV1-H2-aa.dtf

Agregar xxx Jil de AGUA DNAsa/RNAsa free

mm.aa

IVD



4 –OLIGO-VZV

OLIGO-VZV

LOT NV1-VZ-aa.##

Agregar xxx jil de AGUA DNAsa/RNAsa free

IVD



GERMAN PEREZ  
Director Técnico  
ETX MOL S.A.



Dr. DIEGO CHOUTIY

DELMOCS.A.

5 —MASTERMIX FP 5X

\*MASTERMIX FP 5X

FPM-MM-aa.#ft

Listo para usar

mm.aa

IVD



6 - NVt-CTRL POS

NVI-CTRL POS

NV1-CP-aa.##

Listoparausar

mm.aa



2°C - 10°C  
TRANSPORTE

  
Bioq. GERMAN PEREZ  
Director Técnico

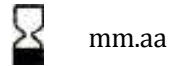
Dr. DIEGO CHOUILLY  
Apoderado  
DETX MOL S.A.

7 - ECD-CTRL INT

ECD-CTRL INT

**LOT** ECD-CI-aa.##

Listo para usar



mm.aa

**IVD**



-20°C

SLMA [ENTAMDCNTO



2°C -

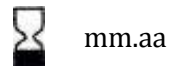
TRAHSPORTE

8—AGUA DNAsa/RNAsa free

AGUA DNAsa/RNAsa free

**LOT** AT1-LAB-aa.##

Listo para usar



mm.aa

**IVD**



AI gACENIAMIENTO



2°C - 10°C

TRANSPORTE

Bloq. GERMA NpgR6T  
Director  
DETx MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHAY

DglxX08 51

INSTRUCCIONES

DE USO

MultiTarget® NeuroV I KIT

Bloq. GERMAN PEREZ  
Técnico

DETz \*\* /

Dr. DINGO CHOUH  
Apoderado  
DETx MOL S.A.

ol

CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MEDICOS

## MultiTargetW NeuroV I KIT

Para utilizar en los equipos:  
QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)  
ABI 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)  
CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)  
cobas• z 480 analyzer (Roche Molecular Systems, Inc.)  
Mic\* qPCR Thermal Cycler- 4 (Biomolecular Systems)

### Fabricado por DETx MOL S.A.

Piso 3 / Nave 4  
Camppts Corporativo Cooperativo Núcleo  
Ruta Provincial N° 16 km S  
Alvear (2130). Santa Fe. Argentina

Dir. Tec.: Germán R. Perez  
Bioquímico. PhD,  
Protucto Aitorizado A.N.M.A.T.  
PM—2900-5

Versión: 01  
Última revisión: 26/11/2024

DETx MOL



La garantía garantiza todos sus productos, tanto en los materiales empleados como en su proceso de fabricación, siendo extensible hasta su fecha de vencimiento, siempre que se mantengan las condiciones de conservación especificadas en este manual. Todos nuestros productos comercializados se producen bajo procesos de un sistema de gestión integral de la calidad certificados por las normas ISO 9001:2015 e ISO 13485:2019. De esta forma, se confirma la reproducibilidad y fiabilidad de cada lote fabricado. Nuestros productos están diseñados para su uso en diagnóstico in vitro.

Para cualquier consulta sobre la aplicación de este producto o sobre sus protocolos, se puede contactar a [soporte@detxmol.com.ar](mailto:soporte@detxmol.com.ar).

	NVI KIT-001.25	NVI-KIT 001.50	NVI-KIT-001.100
<b>REACCIONES</b>	25	50	100

<b>CONTENEDORES</b>			
NV1-OLIGO MIX	1 x +56 LI	1 x +110 LI	1 x +220 pl
OLIGO-HSV1	1 x +56 pl	1 x +110 El	1 x +220 LI
OLIGO-HSV2	1 x +56 pl	1 x 110 tli	1 x +220 tli
OLIGO-VZV	1 x +56 pl	1 fi +110 LI	1 x +220 t
MASTERMIX FP SX	1 x 110 pl	1 x 220 pl	1 x 420 pl
NVI-CTRL POS	1 x 200 pl	1 x 200 tli	1 x 200 tli
ECD-CTRL INT	1 X 600 pl	1 x 600 1	1 x 600 I
AGUA DNase/RNase free	1 x 1500 pl	1 x 1500 pl	1 x 1500 El

<b>ESPECIFICACIONES</b>	
Secuencias dianas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Virus Herpes Simplex tipo 1 (HSV1): gen UL42/pol</li> <li>• Virus Herpes Simplex tipo 2 (HSV2): gen UL23/gp25</li> <li>• Virus Varicela-Zoster (VZV): gen ORF28</li> </ul>
Tipos de muestras	Líquido cefalorraquídeo.
Especificidad analítica	100%
Límite de detección [IC 95%]	<ul style="list-style-type: none"> <li>• HSV1: 6,54 cop/rxn (IC95%: 4,97 – 10,47 cop/rxn)</li> <li>• HSV2: 11,14 cop/rxn (IC95%: 8,80 - 16,81 cop/rxn)</li> <li>• VZV: 15,20 copias/rxn (IC95%: 11,44 – 24,52 copias/rxn)</li> </ul>
Interferente	ninguno de los testeados
CV promedio	SCREENING: 1,70% OLIGO ESPECÍFICO: 136% (HSV1), 142% (HSV2), 162% (VZV)
Validación clínica (188 muestras)	Concordancia general: 100%, Kappa = 1,00 ± 0,04 (IC95%: 0,86 y 1,00)

## INDICE

Información clínica	1
Uso previsto	1
Fundamento del método	2
Contenido del kit	2
Materiales necesarios no provistos por el kit	3
Equipos necesarios no <b>provistos</b> por el kit	3
Condiciones de conservación	4
<b>Advertencias y precauciones sobre su uso</b>	4
<b>Muestra: consideraciones generales</b>	5
<b>Procedimiento</b>	6
<b>1. Obtención de ADN viral</b>	6
<b>2. Reconstitución de los reactivos liofilizados</b>	6
3. Preparación de la mezcla de reacción	6
4. Programación del termociclador	8
<b>5. Análisis de los resultados</b>	8
6. Criterios de validación del ensayo	9
Interpretación de resultados	9
Limitaciones del ensayo	11
<b>Control de calidad</b>	11
<b>Desempeño del producto</b>	11
t. Especificidad <i>in silico</i>	11
<b>2. Especificidad analítica</b>	12
<b>3. Validación clínica</b>	13
4. Límite de Detección	14
5. Precisión/Variabilidad	15
6. Interferencias y contaminantes	16
<b>Referencias bibliográficas</b>	16
Solución de problemas	17
Marcas comerciales y aviso legal	37
Código QR	18

## CLÍNICA

Las infecciones virales del Sistema Nervioso Central (SNC) se caracterizan por presentar síndromes meningoencefálicos asociados a su desarrollo. Los virus neurotrópicos pertenecientes a la familia *Herpesviridae* son responsables de numerosas infecciones tanto en niños como en adultos.

El **MultiTarget\*NeuroV1 KIT** permite la detección de los siguientes patógenos!

**Virus herpes Simple tipo 1 (HSV1):** ampliamente extendido en la población con una prevalencia superior al 95%. Es el causante del herpes labial, la estomatitis herpética y la queratitis. Luego de la primoinfección, HSV1 establece un estado de latencia en los ganglios del nervio trigémino. La encefalitis herpética se debe a la transmisión retrógrada del virus desde el ganglio a través de los axones nerviosos hasta el tejido cerebral luego de la reactivación viral por mecanismos poco precisados. Dada la preponderante afectación del lóbulo temporal del cerebro, se presupone que el nervio olfatorio podría estar involucrado en la patogénesis de la encefalitis herpética.

**Virus herpes Simple tipo 2 (HSV2):** se relaciona principalmente como el agente etiológico del Herpes Genital. Si bien HSV2 establece frecuentemente latencia en los ganglios raquídeos sacros, también se lo ha identificado como causante de Herpes Labial. De esta forma, al igual que HSV1, puede acceder a tejido cerebral, causando encefalitis. Si bien, las manifestaciones de la infección por HSV 2 pueden tener el mismo carácter que las del HSV 1, suelen ser formas clínicas más leves y atípicas, de preferencia en pacientes inmunocomprometidos.

**Virus Varicela-Zoster (VZV):** La infección primaria resulta en varicela, que rara vez puede resultar en complicaciones como encefalitis o neumonía. VZV permanece latente en los ganglios de la raíz dorsal y del trigémino de la persona infectada. En aproximadamente el 10-20% de los casos, el VZV se reactiva más tarde en la vida y produce el Herpes Zoster con complicaciones graves como neuralgia post-herpética, zoster múltiple, mielitis, herpes oftálmico o herpes zoster sinusoidal. Los pacientes inmunodeprimidos pueden desarrollar una erupción cutánea grave con o sin hemorragia. La curación de las lesiones cutáneas tarda tres veces más que en la población general.

## USO PREVISTO

**Método de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa simultánea de Virus herpes Simple tipo 1 (HSV1), Virus Herpes Simple tipo 2 (HSV2) y Virus Varicela-Zoster (VZV) en pacientes con sospecha de infecciones asociadas a inmunodeficiencia de muestras de líquido cefalorraquídeo.**

DETx MOL S.A.  
**detx mol**

IP1  
GES/CHO . . . k1D•0 B lo q. GERARDO PEREZ  
p\$ Director Técnico  
DETx MOL S.A.

## o »!-4.r' r' >.i.!o ji>

El **TerpeW NeuroV1 KIT** se basa en la tecnología de Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR) para la detección específica en forma simultánea o individual de Virus Herpes Simple tipo 1 (HSV1), Virus Herpes Simple tipo 2 (HSV2) y Virus Varicela Zoster (VZV).

A partir del ADN purificado de muestras endocervicales, se realiza la amplificación mediante qPCR utilizando cebadores específicos y sondas de hidrólisis (tipo TaqMan). Estas sondas son oligonucleótidos con un fluoróforo en el extremo 5' y una molécula extintora (*quencher*) en el extremo 3' la cual por transferencia de energía de resonancia fluorescente inhibe la emisión del fluoróforo cuando se encuentra cercana. La mezcla de reacción contiene dUTP y la enzima UNG para evitar la contaminación residual (*carryover*). La reacción se lleva a cabo mediante la acción de una enzima *Fast* ADN polimerasa con actividad exonucleasa y tolerante a los inhibidores más comunes, que provoca la degradación de la sonda separándose el fluoróforo del *quencher*. El aumento de la señal de fluorescencia resultante por acumulación del ADN templado es detectado por el instrumento de qPCR en los canales:

- FAM para detección de patógeno.
- VIC/JOE/HEX para detección del control interno (CI).

Para HSV1 se amplifican un segmento del gen UL42 que modifica para un factor de procesividad de la ADN polimerasa viral.

Para HSV2 se amplifica un segmento del gen UL23 que codifica para la timidina quinasa viral.

Para VZV se amplifica un segmento del gen ORF28 que modifica para la subunidad catalítica de la ADN polimerasa viral.

Además, se provee un control positivo (CP), un control interno (CI) y agua libre de nucleasas para su uso como control de reactivos (CR) a fin de validar cada ensayo.

## CONTENIDO DEL KIT

**NVI-OLIGOMIX:** mezcla de oligonucleótidos antisentido para la amplificación específica de HSV1, HSV2 y VZV, y oligonucleótidos y sondas para la amplificación específica del CI. *Presentación:* seco. *Color de tapa:* azul.

**OLIGO-HSV1:** mezcla de oligonucleótidos sentido y sondas para la amplificación específica de HSV1. *Presentación:* seco. *Color de tapa:* verde.

**OLIGO-HSV2:** mezcla de oligonucleótidos sentido y sonda para la amplificación específica de HSV2. *Presentación:* seco. *Color de tapa:* amarillo.

**OLIGO-VZV:** mezcla de oligonucleótidos sentido y sonda para la amplificación específica de VZV. *Presentación:* seco. *Color de tapa:* naranja.

**MASTERMIX FP 5Z:** mezcla de reacción que contiene todos los componentes para la reacción de amplificación (buffer de reacción, dATP, dCTP, dGTP, dUTP, *Fast* DNA polimerasa, MgCl<sub>2</sub>, UNG, agentes aditivos que maximizan la eficiencia de la PCR, estabilizantes y conservantes). *Presentación:* líquido. *Valor de tapa:* marrón.

CERTIFICACIONES  
GESTIÓN DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MÉDICOS

**detx mol**

**ECD-CTRL INT:** CI que consiste en secuencias de ácidos nucleicos sintéticos.

*Presentación:* líquido. *Color de tapa:* negro.

**NV1-CTRL POS:** CP que consiste en secuencias de ácidos nucleicos específicas para detectar HSV1, HSV2 y VZV y el CI. *Presentación:* líquido. *Color de tapa:* rojo.

**AGUA DNase/RNase free:** agua libre de nucleasas. *Presentación:* líquido. *Color de tapa:* sin color.

### MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS POR EL KIT

- Sistema comercial de purificación de ADN genómico (mediante columnas de sílica o partículas magnéticas).

El Muñitlrpet\* NeuroV IOT fue verificado en los siguientes sistemas comerciales:

- NucleoSpin<sup>^</sup> Virus, Mini kit (cod. 740983.50), Macherey-Nagel (Alemania).
  - ADN/ARN PuriPrep-VIRUS Kit - KIS01 - Inbio Highway (Argentina)
  - TAN Bead Nucleic Acid Extraction kit (Taiwan)
  - Micropipetas de volumen variable.
  - Tips con filtro libres de nucleasas.
  - Tubos de microcentrífuga (x 1,5 o 2 ml) libres de nucleasas.
  - Gradilla para tubos de 1,5 ml o 2 ml.
  - Guantes descartables latex, vinilo o nitrilo sin polvo.
  - Soporte de reacción acorde al Instrumento de PCR en tiempo real que se utilice (ej. microplacas con films ópticos, tubos de qPCR, etc.).
  - Recipiente para el descarte de material biológico.
- + Equipo de protección personal.

### EQUIPOS NECESARIOS NO PROVISTOS POR EL KIT

- Termociclador o instrumento de qPCR siempre que cuenten con canal de detección de fluorescencia para FAM y VIC/JOE/IIEX.

El **WultiTargeH** NeuroV I KIT fue validado en CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) y verificado en los siguientes equipos:

- cohas• z480 analyzer (Roche Molecular Systems, Inc.)
- ABI 7500(Applied Biosystems).
- QuantStudio<sup>®</sup> 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific
- Mic qPCR Thermal Cycler-4 (Applied Biosystems).
- Agitador vórtex.
- Microcentrífuga de mesa con rotor para tubos de 1,5 a 2 ml.

CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MÉDICOS

Bio Director Técnico  
DETx MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY  
Enfermero  
DETx MOL S.A.

detx mol

### CONDICIONES DE CONSERVACIÓN

#### CONDICIONES DE TRANSPORTE, ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DEL KIT

El kit se puede transportar en *íarmn* refrigerada (2 — 10°C). Una vez recibido, almacenar el kit completo a -20°C hasta la fecha de vencimiento indicada en el rótulo de la caja.

#### CONDICIONES DE CONSERVACIÓN DEL KIT UNA VEZ ABIERTO

Una vez resuspendidos los reactivos que vienen liofilizados, también conservarlos a -20°C y protegidos de la luz.

Para la utilización de los reactivos líquidos, se sugiere descongelar previamente a 2 — 8°C no más de 20 minutos previo a su uso.

Evitar los repetidos ciclos de congelamiento/descongelamiento de los reactivos (no más de 10 ciclos) ya que pueden causar pérdida de reactividad.

En caso de no usar regularmente los reactivos reconstituidos, es aconsejable dividirlos en alcuotas y colocar las mismas a -20°C, teniendo en cuenta la utilización de material libre de nucleasas.

Los reactivos son estables hasta la fecha de vencimiento impresa en los rótulos, no pudiendo ser utilizados con posterioridad. Todos los reactivos deben ser conservados de -18 a -25°C y protegidos de la luz.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES SOBRE SU USO

#### ADVERFENGAS

- El procesamiento del ensayo debe llevarse a cabo únicamente por **personal profesional calificado**, cumpliendo con las buenas prácticas de laboratorio y procedimientos de Biología Molecular (fases separadas de procesamiento de muestras, pre y post amplificación, flujo del trabajo, uso de material apropiado, etc.).
- Los reactivos son **solamente para uso diagnóstico** "in vitro".
- Lea atentamente las instrucciones de uso antes de realizar el ensayo para obtener resultados óptimos.
- Todos los reactivos líquidos o los reconstituidos deben descongelarse completamente, homogeneizarse suavemente (evitando formación de espuma) y centrifugarse brevemente *antes* de iniciar el *ensayo*.
- No usar los reactivos luego de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes ni modificar los procedimientos del ensayo.
- No emplear reactivos de origen diferente al indicado.
- No someter el producto a ciclos repetidos de congelado/descongelado.
- En caso de daños visibles en los envases, no utilizar el producto.
- El CP provisto no constituye material potencialmente infeccioso y no debe utilizarse para verificar el desempeño de otros productos similares del mercado.

CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MÉDICOS

detx mol

- Es recomendable verificar el sistema comercial de purificación de ADN o el equipo de qPCR si es diferente al detallado por el fabricante.
- Una vez utilizado el kit, deberá desecharlo según la legislación vigente, teniendo en cuenta que dentro de sus componentes no contiene sustancias peligrosas, infecciosas o tóxicas que estén sometidas a normas de seguridad especiales, y que el embalaje está fabricado de papel y de polipropileno. En caso de cualquier duda contacte con nuestro departamento de atención al cliente.

#### PRECAUCIONES

- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo con la normativa local vigente.
- Extremar los cuidados para evitar que los reactivos sufran contaminación microbiana, con nucleasas o sustancias inhibitorias cuando se introduzcan elementos dentro de los mismos.
- Si el sistema de purificación de ADN a utilizar contiene soluciones de lavado con etanol, asegurar la eliminación de posibles trazas del mismo antes de eluir el ADN ya que inhibe la reacción de qPCR.
- Las muestras de pacientes, los controles y los tubos de reacción usados deben manipularse como desechos infecciosos. Todos los reactivos deben descartarse conforme a las normativas legales.
- Utilice tips con filtro y evite tocar el extremo de la pipeta y/o los tips con los dedos.
- Utilice guantes libres de polvo y equipo de protección biológico.

fb,1' f.'i t iikd. CXI fi<é>l'i'. 1f.it^N f.S é>f N f Redt.Fii

El correcto funcionamiento del producto depende de la adecuada extracción, transporte y conservación del material genético %DN viral presente en la muestra **líquido ce/orraqa/deoj**. Para ello se debe utilizar un método de extracción apropiado para cada tipo de muestra. Tenga en cuenta las instrucciones del fabricante.

#### RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

La toma de muestra debe ser realizada utilizando material estéril y guantes descartables por profesional capacitado. No se requiere preparación especial del paciente.

Los procedimientos se realizan en condiciones de seguridad adecuadas para manejo de material infeccioso (según los documentos M29 - *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections* del NCCLS y *Laboratory Biosafety Manual 4th edition* de la WHO).

#### OBTENCIÓN DEL ADN.

Se debe realizar según los requerimientos e instrucciones del fabricante del sistema de extracción utilizado, el cual debe ser compatible con la metodología de SPQR.

CERTIFICACIONES  
GESTIÓN DE CALIDAD  
DISPOSITIVOS MÉDICOS

BIOLOGÍA  
BERNABÉ PEREZ  
Director Técnico  
.A.

DR. DIEGO CHOU  
\*Acreditado  
DETx MOL S.A.

detx mol

CERTIFICACIONES  
GESTIÓN DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MÉDICOS

#### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO DEL ADN.

Los ensayos moleculares son particularmente sensibles a las condiciones preanalíticas subóptimas, por lo cual la calidad del ADN a utilizar es fundamental. Un almacenamiento temporal del ADN purificado (hasta 2 horas) entre 2°C y 10°C es posible hasta el momento de su utilización. Si es necesario conservarlo por un período mayor de tiempo, se recomienda guardar entre -18°C y -25°C, idealmente a -70°C o utilizar un medio de transporte molecular (UTM). Evite más de un ciclo de congelamiento y descongelamiento, mediante el fraccionamiento en alícuotas.

El incorrecto almacenamiento del ADN y los repetidos ciclos de congelamiento y descongelamiento, pueden afectar su integridad y causar pérdida de desempeño y/o resultados falsos negativos.

#### PROCEDIMIENTO

##### 1. OBTENCIÓN DEL ADN VIRAL

- *En el área de muestras*, agregar 5 µl del XCD-CTRL INT al volumen de muestra a extraer. Homogeneizar con vórtex por 30 segundos y centrifugar brevemente antes de su uso.
- Inmediatamente, realizar la extracción del ADN viral utilizando los sistemas de extracción diseñados a tal efecto, manuales o automatizados, disponibles en el mercado. En caso de no emplear uno de los métodos verificados por DETx MOL se recomienda evaluar su desempeño. Véase información en el apartado MUESTRA: CONSIDERACIONES GENERALES.

##### 2. RECONSTITUCIÓN DE LOS REACTIVOS LIOFILIZADOS

- Centrifugar brevemente los tubos para evitar pérdidas de reactivo al abrirlos.
- *En el área de pre-amplificación*, reconstituir los reactivos NVI-OLIGOMiX, OLIGO-HSV1, OLIGO-HSV2 y OLIGO-VZV utilizando el reactivo AGUA DHase/RNase free con los volúmenes indicados en cada rótulo.
- Homogeneizar con vórtex por 30 segundos y centrifugar brevemente antes de su uso.
- Mantener en frío los reactivos reconstituidos durante su uso.
- Guardar los reactivos reconstituidos a -20°C luego de su uso.

##### 3. PREPARACIÓN DE LA MEZCLA DE REACCIÓN

- Centrifugar brevemente los tubos para evitar pérdidas de reactivo al abrirlos.
- *En el área de pre-PCR*, descongelar el reactivo MASTERMIX FP 5X por completo, mezclar suavemente evitando formación de espuma y centrifugar brevemente antes de su uso.
- Mantener en frío durante su uso.
- Preparar la mezcla de reacción siguiendo las proporciones que indica la tabla, teniendo en cuenta el número de reacciones a realizar en el ensayo.

detx mol

SCREENING - MEZCLA DE REACCIÓN	
REACTIVO	VOLUMEN POR REACCIÓN
NVI-OLI GOMIX	2 El
OLIGO-HSV1	2 pl
OLIGO-HSV2	2pl
OLIGO-VZV	2pl
MASTERMIX FP 5X	4 pl
AGUA DNase/RNase free	3 pl

HSV1 - MEZCLA DE REACCIÓN	
REACTIVO	VOLUMEN POR REACCIÓN
NV1-OLIGOMIX	2 pl
OLIGO-HSV1	2 pl
MASTERMIX FP 5X	4 El
AGUA DNase/RNase free	7 pl

HSV2 - MEZCLA DE REACCIÓN	
REACTIVO	VOLUMEN POR REACCIÓN
NVI-OLIGOMIX	2 pl
OLIGO-HSV2	2 pl
MASTERMIX FP 5X	4 pl
AGUA DNase/RNase free	7 pl

VZV - MEZCLA DE REACCIÓN	
REACTIVO	VOLUMEN POR REACCIÓN
NVI-OLIGOMIX	2 pl
OLIGO-VZV	2 El
MASTERMIX FP 5X	4 El
AGUA DNase/RNase free	7 pl

- Dispensar 15 El de la mezcla de reacción en cada tubo/pocillo de reacción.
- *Jr* agregar a los pocillos/tubos de reacción correspondientes:
  - *fl* 5 El de ADN purificado correspondiente a cada muestra.
  - S El del reactivo **AGUA DNase/RNase free**.
- agregar 5 th del reactivo **NVI-CTRL POS** al pocillo/tubo de reacción correspondiente al o *Po CP*
- t El volumen final de reacción es de 20 µl.
- Cerrar los tubos/pocillos de reacción y, si es necesario, centrifugue brevemente antes de introducir en el instrumento de qPCR

#### 4. PROGRAMACIÓN DEL TERMOCICLADOR

- Es necesario tener información básica respecto al manejo y programación del Instrumento de qPCR a utilizar, por lo cual se recomienda referirse al manual correspondiente.
- Las condiciones generales para llevar a cabo la reacción de qPCR, son las siguientes:

Programa	Quantificación absoluta
Volumen de reacción	20 µl
Colorante de referencia <i>pasivo</i> *	No contiene
Tipo de enzima (Taq)	Fast
Tipo de química	Sonda de hidrólisis
Canales de detección (lba/b )	FAF4 (492 nm / 516 nm) V JOE HEX t 0 550 umm

\*Solo utilizar en equipos que requieran colorantes pasivos

Etapa	Temperatura	Tiempo (rota:seg)	Nº Ciclos	Adquisición
Preincubación	50°C	5 min	1	NO
Activación	95°C	10 min	1	NO
Desnaturalización	95°C	5 seg	45	NO
Elongación	60°C	20 seg		SI

#### S. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

- Es importante tener información básica respecto al procedimiento de análisis de datos del *software* del instrumento de qPCR utilizado, por lo cual se recomienda referirse al manual correspondiente.
- Para el análisis de las curvas de amplificación, se deberá establecer de forma correcta los siguientes parámetros que influyen en la determinación del valor de Ct (ciclo que supera el valor umbral de fluorescencia) para cada muestra:
  - a. *base fluorescence*: debe comprender los ciclos de PCR en los cuales la señal de fluorescencia se encuentra por debajo de los límites de detección del instrumento o al menos un rango de valores de Ct desde 3 a 15).
  - b. *valor umbral de fluorescencia (threshold)*: fijar en la fase exponencial de las curvas de amplificación de las muestras para el templado que se analiza. Por lo general, se fija alrededor del 10% respecto a la *fluorescencia máxima* del *Chateau* general de las curvas de amplificación.

DE. DIEGO CHOU  
Apoderado  
DETx MOL S.A.

dmx ITIGIL

CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MEDICOS

Bioq. GERMAN PEREZ  
Director Técnico  
MOL S.A.

CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MEDICOS

detx mol

### 6. CRITERIOS DE VALJDACIÓ I DEL ENSAYO

Una vez definidos los parámetros anteriores, el ensayo se considera vzlido si se cumptett simultáneamente las siguientes condiciones:

Detección de inhibición v aceatabilidad de las células el ensayo äfvltiTargM NeuroV I KIT detecta la secuencia del control interno (CI) para evaluar la aceptabilidad de la extracción de las muestras y la eficiencia de la amplificación. Al valor del Ct det CI (canal VIC/{OE/HEX}) a partir de una muestra clínica debe ser menor o igual a 35.

Controles oositivo (CPI y negative (NTCt. öeben estar presentes en cada ensayo y procesados junto con las muestras. El NTC está compuesto por Agua libre de DNasa/RNasa, por io cual no debe haber señal (o el Ct ser mayor a 40) en ninguno de los canales. La presencia de señal es indicio de contaminación por otras muestras o por producto amplificado durante la preparación de las muestras o durante la preparación de la placa de reacción.

El CP está compuesto por ADN que contiene secuencias de HSV1, HSV2, VZV y CI debiéndose detectar serial (Ct menores a 30) en el canal FAM y VIC/JOS/HEfi.

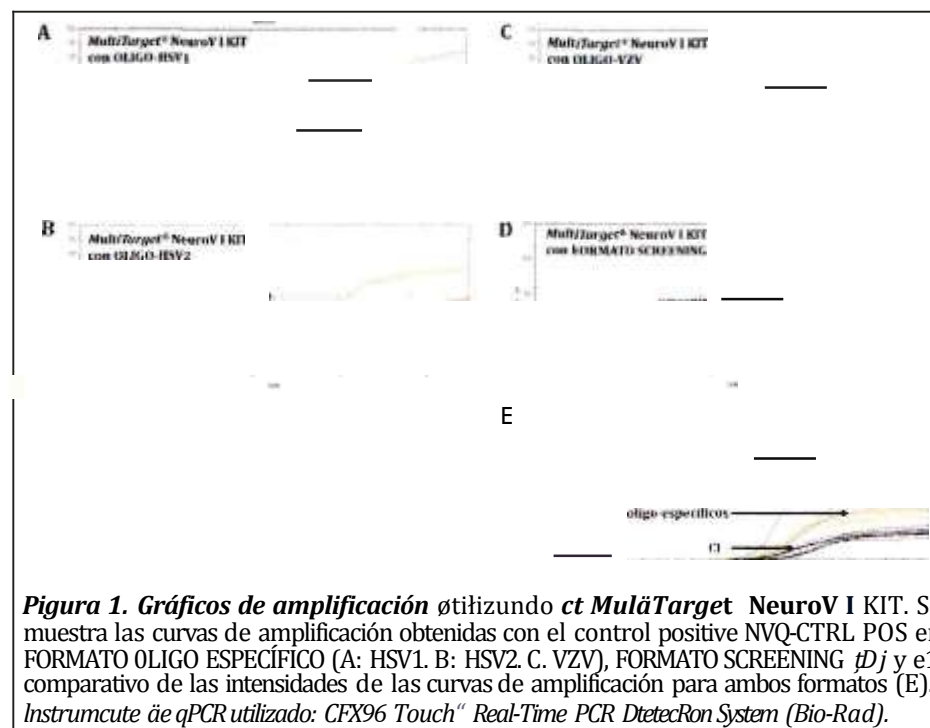
I :“ ÎkP i.t<i> Î.t %'s ti!“. >iu oS

- Se considera **DETECTABLE** para HSV1, HSV2 y/o VZV (canal FAM) cuando se observa una curva de amplificación que cruza el umbral *threshold* dando lugar a un valor de CI s 40. Se considera **NO DETECTABLE** cuando no se observa curva de amplificación (ausen cia de Ct) o cuando la curva de fluorescencia cruza el umbral (*thresholdQ* con un valor de Ct > 40.
- **fodo muestra piiede ser evaluada en formats screening** (detección siniultánea en una única reacción de HSV1, HSV2 y VZV) o eg/orzieto ipdividuol pure cadu **virus**.
- Las muestras en las que no se detecte señal para el o los virus (canal FAM), pero se detecte la señal del CI [canal VIC/JOE/HEX), serán consideradas **VÁLIDAS** y se informarán como **NO DETECTABEE**.
- Las muestras en las que se detecte señal para el o los patógenos (canal FAM) se interpretarán como **DETECTABLE** independientemente de la señal del Ci (canal VIC/JOE/HEX).
- Las muestras en las que no se detecte señal para el o los virus (canal FAM) ni para el CI (canal VIC/JOE/HEX), serán consideradas **INVÁLIDAS** y se recomienda repetir el ensayo a partir de una nueva purificación del ADN o recolectar una nueva muestra del paciente.
- Los resultados y las interpretaciones del ensayo serán similares al ejemplo siguiente;

canal FAIL	canal HEX/VIC/JOE	RESULTADO	INTERPRETACIÓN
NO DET o Ct > 40	Ct s 35	VÁLIDO	NODETECTABLE
NO DET n Ct > 40	NO D2' o Ct > 35	INVÁLIDO	REPETIR
Ct * 40	NO DET o Ct > S5	VÁLIDO	DETECTAÑLE
Ct s 40	Ct s 35	VÁLIDO	DETECTAS LE

- 2n caso de que una muestra resulte de interpretación dudosa o inválida, se recomienda repetir el ensayo a partir de una nueva purificación del ADN o recolectar una nueva muestra del paciente.

La Figura 1 muestra las curvas de amplificación del NVI-CTRL POS.



**Figura 1. Gráficos de amplificación** utilizando *ct MuläTarget NeuroV I KIT*. Se muestra las curvas de amplificación obtenidas con el control positivo NVQ-CTRL POS en FORMATO OLIGO ESPECÍFICO (A: HSV1. B: HSV2. C. VZV), FORMATO SCREENING *tdj* y e1 comparativo de las intensidades de las curvas de amplificación para ambos formatos (E). *Instrumente äe qPCR utilizado: CFX96 Touch“ Real-Time PCR DteetRon System (Bio-Rad).*

*Dr. DIEGO FLOUHY*

DEIMOLS. S.

**deck mol**

CERTIFICACIONES  
cGsnofl oE LAcALioAo  
ojsPositivos öeoicos

Bloq. GERMAN PEREZ  
@ rector °Étc&ico  
DBETz 8-\*

CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
LUSPORITIVOS MEOWOS

**deck mol**

## LIMITACIONES DEL ENSAYO

- Cualquier resultado diagnóstico obtenido con este kit debe ser interpretado en conjunto con otros hallazgos clínicos y/o de laboratorio.
- El incumplimiento del procedimiento del ensayo puede afectar negativamente el rendimiento y/o invalidar el resultado del mismo.
- Los resultados falsos negativos pueden deberse a: recolección y/o conservación inadecuada de las muestras clínicas; degradación del DNA durante el envío o almacenamiento en condiciones inadecuadas; la presencia de inhibidores, error al seguir las instrucciones de uso, etc.

## CONTROL DE CALIDAD

Se deben incluir en cada muestra, previo al procedimiento de extracción de ácidos nucleicos, el Control Interno (5µl del reactivo **ECD-CTRL IHI**). Además, se deben incluir en cada ensayo, al menos un Control Positivo (5µl del reactivo **NYI-CTRL POS**) y un Control de Reacción (5µl del reactivo **AGUA DNase/RNase free**). Estos reactivos se encuentran incluidos en el kit. Para que el ensayo sea válido, es requisito que los resultados para los 2 controles sean los correctos, de lo contrario, deberá repetirse el ensayo.

## DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

### 1. ESPECIFICIDAD *IN SILICO*

**CON SECUENCIA COMPLETA DEL GENOMA HUMANO:** El análisis *in silico* de los oligonucleótidos y sondas incluidos en el **MultiTarget<sup>®</sup> Neuro V I KIT** mostró que los mismos se hibridan con un 100% de identidad con su *target* específico. Este análisis también reveló una potencial hibridación de los oligonucleótidos en zonas no específicas del genoma humano, pero en condiciones que no permite la correcta amplificación y detección. Por lo tanto, se concluye que por predicción *in silico*, el ensayo amplificaría específicamente las regiones esperadas de los 3 patógenos [Virus *Herpes Simplex tipo I* (HSV1), *Virus Herpes Simplex tipo II* (HSV2) y *Virus Varicela Zoster* (VZV)].

**CON SECUENCIAS DE MICROORGANISMOS *in silico* de exclusión:** El análisis *in silico* de los oligonucleótidos y sondas incluidos en el **MultiTarget<sup>®</sup> Neuro V I KIT** mostró una potencial hibridación individual de los mismos en zonas no específicas de los genomas de microorganismos que pueden estar presentes en las muestras clínicas: *Acinetobacter baumannii*, *Aspergillus flavus*, *Blastomyces dermatitidis*, *Burkholderia cepacia*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Nakaseomyces glabratus*, virus Chikungunya, *Chlamydia trachomatis*, Citomegalovirus, *Citrobacter braakii*, *Cryptosporidium parvum*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Neisseria meningitidis*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sanguinis*, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum* y virus Zika.

Coxsackievirus A2, Coxsackievirus B3, *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans*, virus Dengue serotipo 1, virus Dengue serotipo 2, virus Dengue serotipo 3, virus Dengue serotipo 4, Echovirus 5, Enterovirus D68, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Ilistoplasma capsulatum*, Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV) CRF4\_2\_BF, HIV CRF1\_7\_BF, HIV CRF89\_BF, fl IV genotipo B, HIY genotipo FI, Adenovirus 5, Herpesvirus Humano tipo 6, virus Epstein-Barr, IC polyomavirus, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sanguinis*, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum* y virus Zika. Sin embargo, estas hibridaciones presentaban más de una discordancia nucleotídica en el extremo 3' de los mismos, o distancias muy separadas entre sí como para permitir la correcta amplificación y detección, o no había hibridación de alguna de las sondas de modo que permita la detección entre las regiones de hibridación de los cebadores. Por lo que no se espera obtener reacciones cruzadas (falsos positivos) ante la presencia de los microorganismos analizados.

El análisis *in silico* de los oligonucleótidos y sondas incluidos en el **MultiTarget<sup>®</sup> Neuro V I KIT** mostró que un alto porcentaje (>98%) de las secuencias analizadas presentó cero *mismatch* con los oligonucleótidos diseñados.

VIRUS	GEO	N° SECUENCIAS	NO ES O DE MISMATCH					
			CS	PR	CAS	C5	BR	CAS
HSV-1	<i>ijL4Z</i>	253	100,0%	99,9%	100,0%	---	0,8%*	---
HSV-2	<i>Hf.23</i>	352	99,4%	98,9%	100,0%	0,604**	1,1W**	---
VZV	<i>ORF28</i>	350	100,0%	00,0%	100,0%	---	---	---

\* En región central de 2 secuencias (3'>5'), puede afectar la hibridación.

\*\* En 15' nt desde extremo 3' (G>A) en 2 secuencias, no se espera que afecte la hibridación.

\*\*\* En 6º (CLG) o 7º nt (TIC) desde extremo 5' en 4 secuencias, puede afectar la hibridación.

Por lo tanto, se concluye que el **MultiTarget<sup>®</sup> Neuro V I KIT** amplificaría de forma específica a cada uno de los patógenos declarados. Además, no se espera la presencia de falsos positivos (amplificación y detección inespecífica) en el canal VIC/JOE/ HEX (control interno) debida a la hibridación de este sistema de oligonucleótidos con los distintos patógenos.

### 2. ESPECIFICIDAD AFIALÍTICA

Se ensayó un panel de diferentes microorganismos que pueden estar presentes en la muestra clínica: *Acinetobacter baumannii*, *Aspergillus flavus*, *Burkholderia cepacia*, *Candida albicans*, *Chlamydia trachomatis*, Citomegalovirus, *Citrobacter sp.*, Citomegalovirus, *Cryptococcus*

Dr. DIEGO CHOUHY  
Apoderado  
DETX MOL S.A.

mol

GESTIÓN DE CALIDAD  
DISPOSITIVOS MÉDICOS

mol

neofot'mans, *Cryptococcus gatti*, Virus Eps tein-Barr, Ecliovirus 5, Enterovirus, *Lscherichia coli*, Herpesvirus Humano tipo 6, Virus de la Inmunodeficiencia Humana, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y Zika Virus. Cada microorganismo fue preparado en concentraciones adecuadas en matriz de muestra clínica negativa para HSV1, HSV2 y VZV (MCN). Se procedió a la purificación de los ácidos nucleicos con un método comercial según instrucciones del fabricante y se ensayaron réplicas de cada uno con el **MultiTargetG NeuroV** KIT en formato SCREENING y 0.1 LIGO ESPECÍFICO. Los resultados indican ausencia de reactividad cruzada con los microorganismos analizados.

#### REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE LOS PATÓGENOS DETECTADOS POR EL KIT:

Se ensayó un panel con los distintos patógenos detectados por **MultiTargetG NeuroV** KIT para analizar reacción cruzada entre ellos. Para ello, ADN plasmídico de cada microorganismo se prepararon en concentraciones 10<sup>7</sup> copias/reacción en MCN. Luego se procedió a la purificación de los ácidos nucleicos con un método comercial según instrucciones del fabricante. Luego se ensayaron réplicas de cada uno con el **MultiTargetG NeuroV** KIT usando mezcla de reacción con OLIGOS ESPECÍFICOS. Los resultados indican ausencia de reactividad cruzada entre los patógenos detectados por el **MultiTargetG ITS Fertil** KIT.

**ESTUDIO DE COM PETENCIA:** Se evaluó si altas concentraciones de uno de los patógenos podría interferir con la capacidad de detección de los otros 2 patógenos detectados con el kit. Para ello, se prepararon soluciones conteniendo ADN plasmídico 3x LOD en MCN en presencia y ausencia de HSV1, HSV2 y VZV, según corresponda, en alta concentración (10<sup>8</sup> copias/reacción) y se ensayaron con el **MultiTargetG NeuroV** KIT en formato 0 LIGO ESPECÍFICO. Los resultados indican que la detección de cada patógeno con sus 0 LIGOS ESPECÍFICOS no se ve afectada en presencia de altas concentraciones de los otros patógenos detectados por el **MultiTargetG NeuroV** KIT.

### 3. VALIDACIÓN CLÍNICA

El análisis de concordancia (*agreement*) se utiliza para comparar distintos métodos clínicos entre sí cuando son aplicados al mismo grupo de individuos (muestras apareadas). Se utilizó el estadístico Kappa ( $\kappa$ ) de Cohen como medida de concordancia, donde valores entre 0.8 y 1.0 considera una estimación muy buena del grado de concordancia de la prueba.

Se utilizó un panel de muestras compuesto por 146 líquidos ceforraquídeos provenientes de 2 laboratorios de análisis clínicos que fueron originalmente analizadas con el ensayo Meningitis/Encefalitis (ME) FilmArray® (Biofire/Biomérieux). Dada la baja incidencia de los virus analizados, se utilizaron muestras artificiales (*spiking*) a concentraciones 3x LOD y 10x LOD, empleando ADN viral purificado a partir de cultivo para HSV1 (Cepa KOS) y ADN plasmídico sintético para HSV2 y VZV.

Enw4\*TCAC JONES  
cEsiofj DE tA cALloAo  
DisPosiTrvOs MEotCOU

Bt 00  
Bio. GERMAN PEREZ  
@Spect@ 74an00  
SET  
DET. MOLSA.

C IOUHY  
Apoderado  
DET. MOLSA.

CERTIFICACIONES  
GGSTON DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MÉDICOS

JETX MOÍ

SCREENING							
	DET	NO DET	INVALIDO	TOTAL			
p	DET	50	0	0	50	CoocOrOanGa POS	100.0%
	NO DET	0	0	0	0	Concordancia NEG	100.0%
	TOTAL	50	0	0	50	Concordancia GENERAL	100.0%
						KAPPA de COHEN: 1.00 (1.14 - 0.86)	
OLIGO-HSV2							
	DET	NO DET	INVALIDO	TOTAL			
REF	DET	14	0	0	14	CoztcordAztcia POS	100.0%
	NO DET	0	170	0	170	Concordancia NEG	100.0%
	TOTAL	14	170	0	184	CDAcordancia GE\IEFLAE	100.0%
						KABPA de COHE I: t.00 T.T4 - 0.85	
OLIGO-HSV2							
	DET	NO DET	INVALIDO	TOTAL			
REF	DET	77	0	0	77	Concordancia POS	100.0%
	NO DET	0	168	0	168	Coocordaocia NEG	100.0%
	TOTAL	77	168	0	245	Coocordiãacia GENBRAE	100.0%
						WBPA de COHEN: J.00 0.T4 - 0.85	
OLIGO-HSV2							
	DET	NO DET	INVALIDO	TOTAL			
REF	DET	9	0	0	9	CoocordazscTa POS	100.0%
	NO DET	0	188	0	188	fiDncordaocia NEG	100.0%
	TOTAL	9	188	0	197	Coocordiãacia GENBRAE	100.0%
						E PPA de EMIEN t.oo 1.ii - o.es	

### 4. LÍMITE DE DETECCIÓN

Se determinó el límite de detección (LOD) para los distintos targets (fiSv1, 11SV2 y VZV) en la prueba **MultiTargetG NeuroV** KIT en formato 0 LIGO ESPECÍFICO utilizando los siguientes controles disueltos en matriz negativa (MCN) en concentraciones adecuadas:

- Cultivo de HSV1 Cepa KOS
- ADN plasmídico linealizado de HSV2 @HSV2]
- ADN plasmídico linealizado de VZV (pVZV)

La estimación se realizó mediante análisis probit en base a al menos 7 niveles de concentración diferentes con 40 réplicas en cada uno.

PATÓGENO	LOD
HSV1	6,54 cop/rxn (IC95%: 4,97 - 10,47 cop/rxn)
HSV2	11,14 cop/rxn (IC95%: 8,80 - 16,81 cop/rxn)
VZV	15,20 copias/rxn IC95%: 11,44 - 24,52 copias/rxn

Se procedió a verificar el LOD obtenido para cada patógeno, para la detección de HSV1, HSV2 y VZV con **MultiTargetG NeuroV** KIT en formato SCREENING. Para ello se realizaron 40 réplicas en 3 experimentos independientes en concentraciones aproximadas al 1x LOD. De esta forma se verificó que a la concentración 1x LOD se detecten al menos 95% de las réplicas.



## 5. PRECISIÓN/VARIABILIDAD

Se realizó un análisis 5 x 5 x 3 (guía CLSI EP05-A3) para obtener estimaciones de reproducibilidad {variación entre ensayos}, repetibilidad {variación intraensayo} y precisión entre equipos [variación de instrumento].

Los equipos utilizados fueron: Quantstudio 3 Real-Time PCR System de Thermo Fisher Scientific (QS3), MiH qPCR Thermal Cycler-4 de Biomolecular Systems (MtC1) y ffY96 Touch 7-time PCR Detection System de Bio-Rad (CfiX).

Se emplearon diferentes paneles dependiendo la estrategia de detección:

- Control positivo NVI-CTRL POS.
- Cultivo de HSV1 (Cepa KOS) y ADN plasmídicos linealizados de HSV2 (pHSV2) y VZV (pVZV), a concentraciones 3x LOD disueltos en MCN.

### DETECCIÓN DE CADA PATÓGENO EN FORMATO OLIGO-ESPECÍFICO

- Control positivo NVI-CTRL POS.
- Cultivo de HSV1 (Cepa KOS) y ADN plasmídicos linealizados de HSV2 (pHSV2) y (pVZV), a concentraciones 3x LOD y 10x LOO disueltos en MCN.
- muestras clínicas artificiales fabricadas mediante el agregado de ADN plasmídico *Lspiking* a MCN de líquido cefalorraquídeo (MC HSV1 / MC HSV2 / MC VZY).

El cálculo para los canales en donde se detecta el o los patógenos y el control interno se realizó con el software *Analyse-it Ultimate edition* (Analyse-it Software, Ltd. HK).

MUESTRA	PROMEDIO		REPETITIVIDAD		INTRA EQUIPO		REPRODUCIBILIDAD	
	Ct	eve	so	cvs6	sD	eve	e	
NIT-CARL POR	24,4t	0,919\$	D,222	0,91%	0,222	£,W%	0,352	
HSV1 - 3xLOD	35,93	1,61%	0,579	1,86%	0,667	1,89%	0,679	
HSV2 - 3xLOD	34,59	1,91%	0,659	2,00%	0,691	2,44%	0,844	
VZV - 3xLOD	34,34	1,71%	0,586	1,71%	0,586	2,07%	0,712	
NVI-CTRL POS	25,87	0,62%	0,160	0,62%	0,161	1,88%	0,485	
s«inniisvi	ss.ss	i,sT	o.s99	i.sus	o,sss	a,oTw	0,7aa	
t0xLODHS¥1	34,34	1,25%	0,428	£,Z5%	0,428	1,81@	0,623	
MCHSVt	25,76	0,7T%	0,203	0,88%	0,220	£,80W	0,463	
<b>NVt•CIKLP08</b>	<b>25,79</b>	<b>0,6696</b>	0,271	<b>0,6696</b>	0,T71	<b>2,0096</b>	0,5t5	
3x1.0DHSV2	34,63	t,W96	0,532	1,5W	0,534	2,2296	0,769	
t0xLODHSV2	32,83	T,1096	0,360	1,1096	0,360	g,tB96	0,717	
MCHSV2	25,36	0,8Z'f6	0,208	0,gg96	0,208	2,3996	0,607	
NV1•CTRL POS	2S,7	1.z	0,314	z.zss+	0,3i i	2,7isv	0,697	
3xLOD VZV	34,83	£,96%	0,674	2,96%	0,674	2,1T%	0,7St	
10xLOD vzV	3	,	0,3Z9	a,oz96	D,329	82'l	0,588	
ricvw	zs,<0	0,9e'¥,	zsz	*.tasa	0,z86	:z,ia't	0,s4t	

CERTIFICACIONES

\*\*\*

g;

RBZ

'DirerDo \*\*\*\*\*

r.

O C I I O U I V

SCITIOI

El MufttFarget'• NeuroV I IfIT demostró una reproducibilidad, repetitividad y precisión intraequipo del 1009'6 para la detección de HSV1, HSV2 y VZV en formato SCREENING con CVt><ai» de 1,7096, yen formato OLIGO ESPECIFICO con CVI, si de 1,3696 para HSV1, 1,429E para HSY2 y 1,62% para VZV.

## 6. INTERFERENCIA Y COHÉTAMI FANTES

Se evaluó el rendimiento del **MuldTarget HeuroY I KiT** atite la presencia eventual de posibles sustancias endógenas y exógenas interferentes en la muestra en concentraciones potencialmente similares a las que podrían encontrarse durante la recolección. Para ello se utilizaron muestras artificiales adicionando plasmidos para HSV1, HSV2 o VzV a concentraciones 3x LOD en una matriz de MCN. Este estudio se realizó con el 5fufti'ForgeW NeuroY I KIT en formato SCREENING, testeando que no haya interferencia para la amplificación de ninguno de los targets, como así tampoco resultados falsos positivos en el testeo de muestras negativas.

Cada sustancia se ensayó por triplicado. Las sustancias ensayadas y sus concentraciones fueron: Glucosa 990 mg/dL, Lactato 220 mg/dL, Proteína (Albumina) 1500 mg/dL, Inmunoglobulina (IgG) 500 mg/dL, Glóbulos blancos (GB) 10000 células/uL y Sangre entera humana 10 % (v/v)

Además, se evaluó la presencia de ADN humano en altas concentraciones t100 ug) y etanol 596 en el eluato por triplicado como posible contaminante.

Los resultados indican que, de todas las sustancias evaluadas, el rendimiento de 3fiiffTarget\* **HeuroV I KIT** no se ve afectado en presencia de los interferentes estudiados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- o Bradshaw I4J, Venkatesan A. Herpes Simplex Virus-1 Encephalitis in Adults: Pathophysiology, Diagnosis, and Pfanagement. *Peurotherapeutics*. 2016 jul;13(3):493-508. doi: 10.1007/s13311-016-0433-7.
- Carneiro YCS, Pereira IG, de Paula VS. Family Herpewiridae and neuroinfections: current status and research In progress. *Venn Inst Osvaldo Cruz*. 2022 Nov Z1;117:e220200. dot: 10.1590/0074-02760220200.
- e Chen YJ, Sr IK. Evaluating me Impact of Rapid Multiplex PtR Testing on i\Meningitis and Encepiialitis Diagnosis: a Retrospective Analysis. *Clin Lab*. 2024 Nov 1:70(11). dni: t0.7754/Clin.Lab2024J40612.
- Gershon AA, BreuerJ, tohen Jt, Cohrs RJ, Gershon MD, Gildden D, Grose C, Hambleton S, Kennedy PD, Oxman i4H, Seward JF, Yamanishi K. Varicella zoster virus infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Jul 2;1:15016. doi: 10.103B/nrdp.2015.t6.
- t Gundamraj V, Hasbun R. Viral meningitis and encephalitis: an update. *Curr Opin Infert Dis*. 2023 Jun 1;36(3):177-185. doi: 10.1097/QCO.0000000000000922.
- McGill F, GriffllGs MJ, Solomon T. Viral meningitis: current issues in diagnosis arid treatment. *Curr Opin Infect Dis*. 2017 Apr;30(2):24B-256. doi: 10.1097/QCO.0000000000000355.
- Nagel MA, Niemeyer CS, Bubak Afl. Central nervoua system *infections* produced by varicella zoster virus *Curr Opin Infect Dis*. 2020 Jun;33t8j:273-278 d0 10.1097/QCO.0000000000000647.

CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MEDICOS

detx mol

- Steiner I, Benninger F. Eipdate on hi•rpes vn us infections of the nervous system.' turr N
- N. m ERMi 20scu De !3 2Y4S4d .read 'e7idukur N p nbujg'. Diagnostic accuracy of rapid one-step PCR assays for detection of herpes simpler virus-I and -2 in cerebi'nsipinal fluid: a systematic review and meta-analysis. Clin Microbiu1 Infect. 2022 Dec;28(12):1547-4557. doi: t0.1016/j.cmi.2022.06.004.
- Zhu S, Viejo-Borhnila A. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. Virulence. 2021 Dec;12(\*):2G70-270 2. dci: 10.1000/2 1505594.2021.1982373.

## SOLUCION DE PROBLEMAS

Vel ifique siempre antes ùe su uso:

- la fecha de caducidad del kit
- las condiciones de almacenamiento y manipulación
- los ajustes de la pipeta y del termociclador

Se detecta señal baja en un canal sin curva de amplificación característica.

Emisión de señal inespecfca que en algunos equipos puede interpretarse como un resultado detestable. Aumente el valor umbral justo por encima de la señal no específica.

Se detecta una señal en la reacción del Control de Reacción (N'fC).

Posible contaminación con productos de amplificación en concentración elevada. Repetir el análisis.

No se detectó señal en la reacción del Control Positivo.

Descarte un error de pipÁteo. Repetir el análisis.

En la muestra examinada, se detecta baja señal de fluorescencia junto con un valor bajo de Ct en el control endógeno.

Elevada cantidad de ADN genómico en el eluato utilizado. Verifique que la concentración no sea superior a 200 ng/reacción. En caso contrario, diluya la muestra o prepare un nuevo aislado de ADN viral.

s' .\i4t' \\*< i ti61::it i si ! 4'. ".i : t: i ti,,it

*MultiTarge* (DETx MOL SA.); ABI Prism , QuantStudio™ (Applied Biosystems); CFX96 TOUCH™ (Bio-kad); LightCycler\*, cobas\* (Roche); High way (Inbio Highway); Mica (Biomolecular Systems).

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

**El *MultiTargeH NeuroY I KIT* es un kit de Riagnóstico con ma'cado UD de conformidad con las directivas de A.N.M.A.T. de diagnóstico in vitro.**

No disponible en todos los países.

(C) 2024 DETx MOL S.A.; reservados todos los d e r a

CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MEDICOS

Bioq. GERMAN PEREZ  
Director Técnico  
DETx MOL S.A.

Dr. DIEGO CHQUIY  
Apoderado  
DETx MOL S.A.

mcl

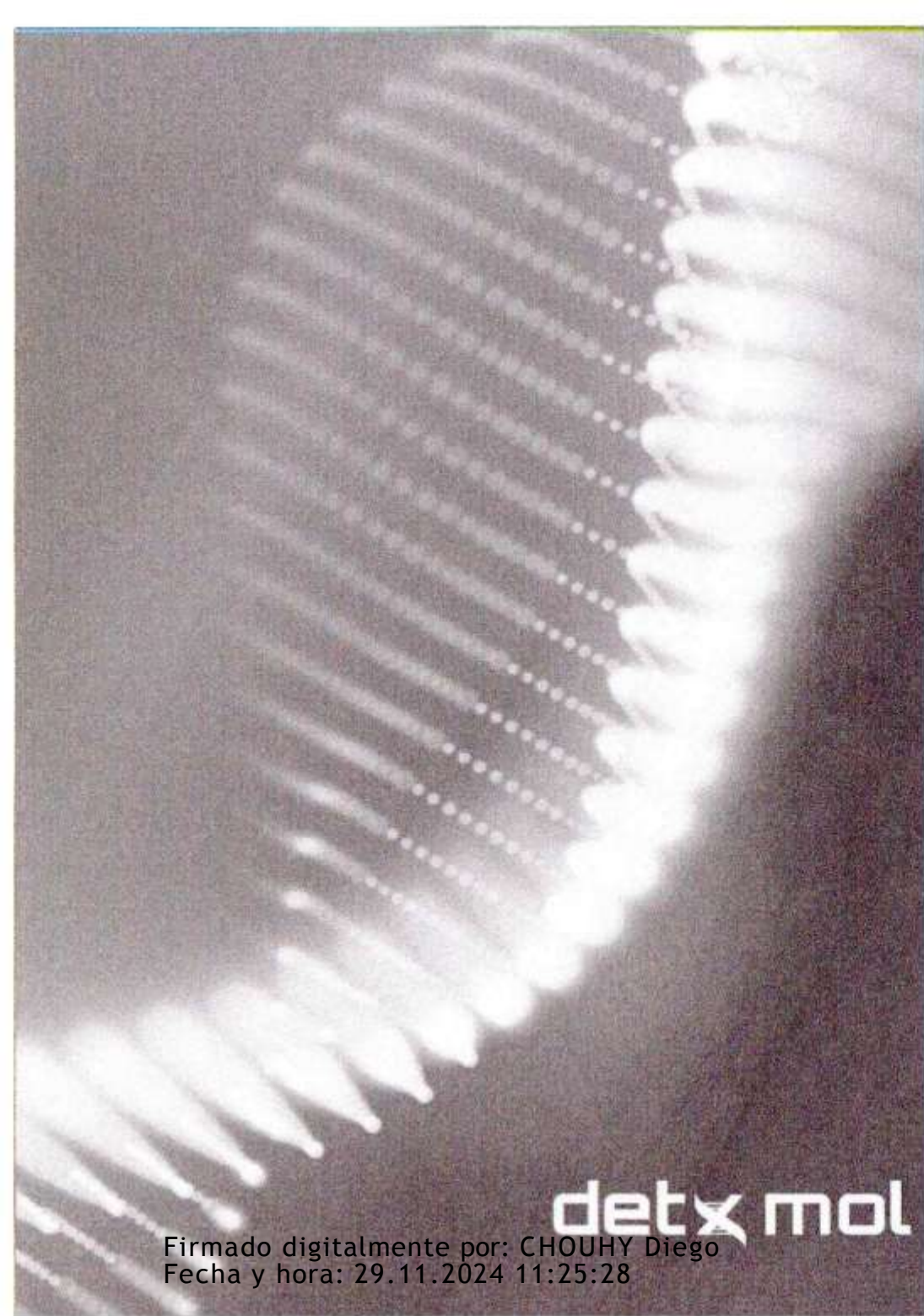
CERTIFICACIONES  
GESTION DE LA CALIDAD  
DISPOSITIVOS MEDICOS

detx mol

## CODIGO QR

El código de barras en 2D (código QR) en la tarjeta que acompaña al kit permite el acceso a la versión última del protocolo del ensayo para el uso del **3ultiTnrgt\* NeuroV I KIT**.

El código QR solo se puede escanear en forma impresa. Puede escanear el código directamente desde la tarjeta que acompaña al kit o imprimirlo en una hoja independiente. tenga en cuenta que el tamaño de la impresión afecta a la capacidad de escaneo del código de barras. Asegúrese de que el tamaño de la escala es del 100%.



detx mol

Firmado digitalmente por: CHOUHY Diego  
Fecha y hora: 29.11.2024 11:25:28

Bloq. GERMAN PEREZ  
Director Técnico  
DETx MOL S.A.

Dr. DIEGO CHOUHY

Firmado digitalmente por: PEREZ German Roberto  
Fecha y hora: 29.11.2024 11:27:49

DETx MOL S.A.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
AÑO DE LA RECONSTRUCCIÓN DE LA NACIÓN ARGENTINA

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:**

**Referencia:** ROTULOS E INSTRUCCIONES DE USO DETX MOL S.A.

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 19 pagina/s.