



WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection

FINALIDAD DE USO

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection se utiliza en la detección cualitativa de ARN de Dengue, Zika y Chikungunya en muestras de plasma o suero, mediante RT-PCR en tiempo real en un sólo paso en formato multiplex. La detección diferencial se lleva a cabo utilizando oligonucleótidos y sondas tipo TaqMan específicos de cada virus (Dengue, Zika o Chikungunya) en diferentes canales de detección. El mismo está diseñado para ser utilizado en termocicladores en tiempo real y su uso está indicado para diagnóstico, control y monitoreo, en pacientes con síntomas compatibles con infección causados por estos arbovirus en la población general. Destinado a profesionales bioquímicos o afines para uso en laboratorios de análisis clínicos, clínicas médicas y hospitales.

SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

Los virus Dengue (DENV), Zika (ZIKV) y Chikungunya (CHIKV) se transmiten principalmente a través de la picadura de mosquitos infectados del género *Aedes* (*A. aegypti* y, en menor grado, *A. albopictus*). Estando ampliamente distribuidos en zonas de regiones tropicales y subtropicales donde se consideran endémicos, también causan brotes epidémicos lo que contribuye a la creciente expansión geográfica de estas enfermedades.

El DENV es un virus envuelto, con genoma ARN de cadena simple y sentido positivo, perteneciente a la familia *Flaviviridae*. Presenta cuatro serotipos (DENV-1 a DENV-4), cercanamente relacionados pero antigénicamente diferentes, que pueden e incluso suelen circular simultáneamente en una misma región. Mientras que la mayoría de los casos de infecciones por DENV cursan de manera asintomática, en los casos que presentan sintomatología esta puede variar desde cuadros febriles leves y erupciones cutáneas (comúnmente involucrando también cefaleas, mialgias o artralgias de intensidad variable), hasta formas graves con compromiso hemorrágico y shock, especialmente en infecciones secundarias por serotipos distintos al asociado a la primoinfección. Las infecciones por DENV se caracterizan por ser muy dinámicas, pudiéndose verse agravado el cuadro de los pacientes en tiempos muy breves, lo que remarca la importancia de un diagnóstico certero y rápido.

El ZIKV, también miembro de la familia *Flaviviridae*, comparte vectores y áreas endémicas con DENV y CHIKV, siendo cada vez más frecuente el reporte de su propagación hacia nuevas regiones. Las infecciones por este virus se cursan en gran medida sin sintomatología o, en caso de desarrollar enfermedad, suelen presentar un cuadro febril leve, exantema maculopapular y conjuntivitis no purulenta. También son frecuentemente acompañadas por procesos de cefalea, artralgia, mialgia y/o edema periarticular, pero su principal relevancia clínica radica en las complicaciones



neurológicas (síndrome de Guillain-Barré) y las malformaciones congénitas asociadas a la infección durante el embarazo.

El CHIKV es también un virus envuelto de genoma ARN de cadena simple y polaridad positiva, pero perteneciente a la familia *Togaviridae* y cuyas infecciones se cursan mayoritariamente en forma sintomática. La enfermedad por CHIKV puede causar mialgias, cefaleas, náuseas, exantemas y, ocasionalmente, complicaciones neurológicas. No obstante, su sintomatología más común está dada por procesos febriles agudos acompañados de artralgias intensas, que suelen resultar incapacitantes y pueden persistir durante semanas o incluso meses. Por ello, aunque estas infecciones rara vez implican letalidad, su impacto socioeconómico es muy significativo.

Así, las infecciones por DENV, ZIKV y CHIKV representan un importante problema de salud pública debido a su alta incidencia y co-circulación, potencial epidémico y similitud sintomatológica (con manifestaciones iniciales inespecíficas), lo que dificulta el diagnóstico diferencial basado únicamente en la presentación clínica. La detección y discriminación de estos virus durante la fase virémica (aproximadamente durante la primera semana desde el inicio de síntomas en muestras de suero/plasma) requiere la utilización de métodos moleculares que permitan la detección del genoma viral. En esta fase, también son utilizados métodos inmunológicos para el diagnóstico de DENV, detectando el correspondiente antígeno NS1 viral. Dichos métodos inmunológicos de diagnóstico son fundamentales una vez culminada la fase virémica, momento a partir del cual el diagnóstico diferencial de DENV, ZIKV y CHIKV es resuelto mediante la detección de anticuerpos específicos para cada uno de estos virus.

En conjunto, la detección e identificación del material genético de DENV, ZIKV y CHIKV por RT-qPCR, dadas las elevadas sensibilidad y especificidad diagnósticas de esta metodología, posibilita el diagnóstico temprano y confiable de estas infecciones. Esto es importante no solo para alcanzar un diagnóstico precoz acertado (que permita optimizar el manejo clínico de cada caso y reducir complicaciones asociadas) sino también para facilitar la vigilancia y control de la propagación de estas infecciones, cuya notificación obligatoria es una medida cada vez más aceptada a nivel global.

FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

El WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection es un ensayo "*in vitro*" que comprende la retrotranscripción de secuencias específicas del ARN viral, seguida de amplificación por PCR en tiempo real en un paso (*one step* RT-qPCR) y detección. Este ensayo de detección cualitativa y diferenciación de secuencias de los genomas virales, se realiza a partir de ARN purificado desde muestras biológicas de suero o plasma de individuos con sintomatologías febriles o sospecha de infección con DENV, ZIKV o CHIKV. El kit detecta la región 3'UTR del genoma viral de DENV, la región genómica de ZIKV codificante para la



proteína de la Envoltura (ENV) y la región genómica de CHIKV codificante para la proteína No Estructural-1 (NSP1).

El procedimiento completo requiere previamente la purificación del ARN viral a partir de la muestra biológica, y consiste en la retrotranscripción y subsiguiente amplificación en una sola etapa, de regiones conservadas de cada genoma viral y de un control interno exógeno (IC). Los ARN virales y del IC se transcriben a ADNc (ADN copia) mediante la enzima transcriptasa reversa, los cuales se utilizan como moldes para la amplificación por PCR mediante una enzima Taq ADN polimerasa. Durante la reacción de PCR, la actividad exonucleasa 5' de la enzima provoca la degradación de la sonda tipo TaqMan®, separándose el fluoróforo del *quencher*. Esta reacción genera un aumento en la señal fluorescente que es proporcional a la cantidad de templado. Esta fluorescencia se puede medir en instrumentos de PCR en tiempo real: canal FAM para la detección de secuencias de la región no traducida 3' (3'UTR) del virus de Dengue, canal Cal Fluor Red 610 para la detección de secuencias de la región ENV del virus de Zika, canal HEX para la detección de secuencias de la región NSP1 del virus de Chikungunya y canal Cy5 para la detección del gen codificante de receptor de tirosina fosfatasa tipo N2 de rata (ptprn-2) como IC exógeno. El ARN del IC (ICr) debe ser adicionado a cada muestra durante el procedimiento de extracción del ARN, previniendo la generación de resultados falsos negativos asociada con la posible pérdida de ARN molde durante la preparación de la muestra, y asegurando la ausencia de inhibidores en la reacción de RT-PCR. Opcionalmente, es posible evaluar en forma independiente el correcto desempeño de la RT-PCR, utilizando dicho ICr como único molde. Se recomienda monitorear en cada ensayo el correcto proceso de amplificación de todos los blancos mediante la evaluación del Control Positivo (PC). Es necesario además incluir un Control Negativo de reacción (NC), utilizando agua libre de nucleasas en lugar de muestra, para confirmar la ausencia de contaminación de los reactivos. En caso de resultado positivo para este control, se debe repetir la prueba buscando previamente las posibles fuentes de contaminación y eliminándolas.

REACTIVOS PROVISTOS

PC DZC/IC: Control Positivo de amplificación que consiste en secuencias de ácidos nucleicos específicas de los virus del Dengue, Zika y Chikungunya y del IC.

Presentación: seco.

RT Mix DZC (40x): mezcla de reacción para la retrotranscripción de los ARN de DENV, ZIKV, CHIKV y del IC. Contiene: buffer de reacción, DTT (ditiotreitól) 100 mM, Inhibidores de ARNasas 40 U/μl, Transcriptasa Reversa, agua tratada con DEPC (dietilpirocarbonato), estabilizantes y conservantes.

Presentación: líquido.



Master Mix DZC (5x): mezcla de reacción para la amplificación/detección del ADNc resultante de la retrotranscripción. Contiene: buffer de reacción, KCl 250 mM, dNTPs 1 mM, *Hot Start Taq* DNA polimerasa, MgCl₂ 15 mM, agentes reductores, estabilizantes y conservantes.

Presentación: líquido.

Oligo Mix DZC: mezcla de oligonucleótidos y sondas para la amplificación específica de las secuencias de DENV, ZIKV, CHIKV y del IC.

Presentación: seco.

ICr: Control Interno que consiste en secuencias de ARN específicas del gen del receptor de tirosina fosfatasa tipo N2 de rata (*ptprn-2*).

Presentación: seco.

RNase/DNase-free H₂O: agua libre de nucleasas.

Presentación: líquido.

REACTIVOS Y EQUIPAMIENTO NO PROVISTOS

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

Nota: si bien el WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection fue validado con los productos que figuran a continuación, pueden utilizarse otros sistemas comerciales similares.

- QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN Cat 52906)
- High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche, Cat. 11 858 874 001)
- NucleoSpin RNA Virus (Macherey-Nagel, Cat. 740956)

- 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 látex, 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.)

- Termociclador o instrumento de PCR en tiempo real: pueden utilizarse diferentes marcas comerciales, siempre que cuenten con canal de detección de fluorescencia para FAM, HEX, Cal Fluor Red 610 y Cy5 (o canales alternativos con espectros comparables). Nota: este producto fue validado en los siguientes termocicladores:

- QuantStudio 5 (Applied Biosystems)
- CFX96 (BIO RAD)
- CFXOpus96 (BIO RAD)



- Agitador vórtex
- Microcentrífuga de mesa con rotor para tubos de 1,5 a 2 ml
- Recipiente para el descarte de material biológico
- Equipo de protección personal

PRECAUCIONES

- Los reactivos son para uso diagnóstico *in vitro*.
- Leer atentamente las instrucciones de uso antes de realizar el ensayo.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Todos los componentes deben descongelarse completamente (una vez reconstituidos, si corresponde), homogeneizarse y centrifugarse brevemente antes de ser utilizados. Luego se recomienda mantenerlos refrigerados hasta realizar el ensayo, especialmente las mezclas de retrotranscripción y amplificación de ácidos nucleicos, las cuales deben homogeneizarse suavemente, evitando formación de espuma.
- 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.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.
- Evitar que los componentes sufran contaminación microbiana o con nucleasas, cuando se introduzcan elementos dentro de los mismos.
- Si el sistema de purificación de ARN a utilizar contiene soluciones de lavado con etanol, asegurar la eliminación de posibles trazas del mismo antes de eluir el ARN ya que inhibe la reacción de qPCR.
- La utilización de portadores (*Carriers*) durante la extracción de ARN es clave para la eficiencia de recuperación y estabilidad del purificado.
- Es fundamental para el uso de este producto, contar con los conocimientos básicos en el manejo de técnicas moleculares para diagnóstico. Debido a la alta sensibilidad de la tecnología de amplificación, es necesario respetar las normas de trabajo indicadas para este tipo de análisis (áreas de procesamiento de muestras, pre y post amplificación, flujo del trabajo, uso de material apropiado, etc).

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

- El kit se puede transportar en forma refrigerada (2-10°C). Una vez recibido, almacenar el equipo completo a -20°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
- Los reactivos provistos en seco, también conservarlos a -20°C, incluso después de ser resuspendidos.



- Evitar repetidos ciclos de congelamiento/descongelamiento de los reactivos (no más de tres ciclos) ya que pueden causar pérdida de reactividad.
- Se recomienda dividir los reactivos en alícuotas y colocar las mismas a -20°C , teniendo en cuenta la utilización de material libre de nucleasas. Además, considerar que el reactivo ICr es un control de ARN (congelar y descongelar lo menos posible) y mantener siempre en refrigeración durante su utilización, y que el reactivo Oligo Mix DZC contiene sondas que requieren estar protegidas de la luz.

MUESTRA

ARN proveniente de muestra clínica de suero o plasma.

Recolección y transporte de la muestra clínica:

Las muestras clínicas deben ser recolectadas, almacenadas adecuadamente, y transportadas según las recomendaciones de las autoridades sanitarias locales, considerando que el correcto tratamiento y manipulación de dichas muestras cumplen un papel esencial en el desempeño posterior de los ensayos. En caso de ser necesario transportar las muestras clínicas para su procesamiento, se sugiere realizar el envío inmediatamente luego de su obtención, refrigeradas a $2-10^{\circ}\text{C}$. En caso de que el procesamiento o transporte deba ser demorado por más de 48 hs, conservarlas a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Luego, transportar de ser necesario refrigeradas a $2-10^{\circ}\text{C}$ o manteniéndolas a $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

Purificación del ARN:

El ARN se purifica según los requerimientos e instrucciones del fabricante del kit de extracción de ARN utilizado, el cual debe ser compatible con la metodología qPCR, asegurando una alta calidad del ARN purificado. El ICr debe ser adicionado directamente a cada muestra clínica durante el procedimiento de purificación del ARN. Agregar $5\ \mu\text{l}$ de ICr por muestra, luego del proceso de lisis de la muestra clínica (salvo diferente instrucción expresa del fabricante del kit de extracción).

El procedimiento se realiza en condiciones de seguridad adecuadas para manejo de material infeccioso (según el documento *M29-Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections* del NCCLS).

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento del ARN:

Los ensayos moleculares son particularmente sensibles a las condiciones preanalíticas subóptimas, por lo cual la calidad de la muestra a utilizar es fundamental. El ARN recientemente purificado debe mantenerse en baño de hielo y/o bloque frío hasta el momento de su utilización, si el ensayo se realiza en forma subsiguiente a dicha purificación. En caso contrario, se debe almacenar el ARN purificado a $\leq -70^{\circ}\text{C}$ (de no ser posible, almacenar a $\leq -20^{\circ}\text{C}$). En caso de ser necesario, para evitar más de un ciclo de congelamiento/descongelamiento, se recomienda alicuotarlo.



PROCEDIMIENTO COMPLETO DEL ENSAYO

1- Extracción del ARN (ver MUESTRA)

2- Reconstitución de los reactivos liofilizados

Hacer una breve centrifugación de los mismos para evitar pérdidas al abrir los tubos.

En el área de pre-amplificación: Reconstituir el reactivo Oligo Mix DZC utilizando 110 µl del reactivo RNase/DNase-free H₂O. Homogeneizar con vórtex por 30 segundos, dejar 10 min a temperatura ambiente, volver a homogeneizar y hacer una breve centrifugación antes de su uso. Mantener el reactivo reconstituido refrigerado (en hielo o bloque frío) durante su uso. Guardar el reactivo reconstituido a -20°C luego de su uso.

En el área de procesamiento/manipulación de muestras: Reconstituir el reactivo ICr utilizando 500 µl del reactivo RNase/DNase-free H₂O. Homogeneizar con vórtex por 30 segundos, dejar 10 min a temperatura ambiente, volver a homogeneizar y hacer una breve centrifugación antes de su uso. Se recomienda hacer alícuotas para evitar sucesivos congelamientos y descongelamientos. Guardar el reactivo reconstituido a -20°C luego de su uso.

En el área de amplificación: Reconstituir el reactivo PC DZC/IC utilizando 500 µl del reactivo RNase/DNase-free H₂O. Homogeneizar con vórtex por 30 segundos, dejar 10 min a temperatura ambiente, volver a homogeneizar y hacer una breve centrifugación antes de su uso. Guardar el reactivo reconstituido a -20 °C luego de su uso.

3- Preparación de la mezcla de reacción

Descongelar los reactivos por completo y mezclar.

En el área de pre-amplificación: Los reactivos RT Mix DZC (40x) y Master Mix DZC (5x), deben mezclarse suavemente evitando formación de espuma y colocarse inmediatamente en frío (hielo o bloque frío), una vez descongelados. Hacer una breve centrifugación de los mismos para evitar pérdidas al abrir los tubos.

Preparar la mezcla de reacción siguiendo las proporciones que indica la tabla, teniendo en cuenta el número de reacciones a realizar en el ensayo.

Reactivo	Volumen por reacción (µl)
RT Mix DZC (40x)	0,5
Master Mix DZC (5x)	4
Oligo Mix DZC	1
RNase/DNase-free H ₂ O	9,5

Preparar el número de reacciones necesarias incluyendo muestras y controles. Se recomienda incluir hasta un 10% de volumen adicional para asegurar un dispensado preciso.

Dispensar 15 µl de la mezcla de reacción en cada tubo/pocillo de reacción.



En el área correspondiente, agregar 5 µl de la muestra clínica o de los controles a los respectivos pocillos/tubos de reacción, según lo siguiente:

- Muestras a analizar: 5 µl de los ARN purificados correspondientes a cada muestra
- NC: 5 µl del reactivo RNase/DNase-free H₂O
- PC: 5 µl del reactivo PC DZC/IC
- IC: 5 µl del reactivo ICr (opcional)

El volumen final de reacción es de 20 µl.

Se recomienda, manipular las muestras y el ICr en el área destinada a tal fin (área de procesamiento/manipulación de muestras) y el PC en el área de amplificación, para evitar contaminar el resto de los reactivos. Cerrar los tubos/pocillos de reacción e iniciar la reacción en el termociclador.

4- Programación del termociclador

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

Condiciones generales	
Programa	Cuantificación absoluta
Volumen de reacción	20 µl
Colorante de referencia pasivo*	No contiene
Tipo de enzima (Taq)	Standard
Tipo de química	Sonda de hidrólisis

*Solo en equipos que utilizan colorantes pasivos

Detectores de fluorescencia	
Detección	Fluoróforo (absorción/emisión)
DENV	FAM (492 nm / 516 nm)
ZIKV	Cal Fluor Red 610* (590 nm / 610 nm)
CHIKV	HEX** (530 nm / 556 nm)
IC	Cy5 (650 nm / 670 nm)

* Espectro de absorción/emisión similar a Texas Red/JUN

** Espectro de absorción/emisión similar a JOE/VIC/Yakima Yellow

Programa de amplificación y detección				
Etapas	Temperatura	Tiempo (min:seg)	Ciclos	Adquisición
Retrotranscripción	50°C	30:00	1	-
Desnaturalización/Activación Taq	95°C	5:00	1	-
Amplificación	95°C	0:15	45	-
	60°C	0:45		Si*

*La fluorescencia se debe registrar durante el paso de extensión (60°C) en los canales FAM, Cal Fluor Red 610, HEX y Cy5.



5- Análisis de los resultados

Es importante tener información básica respecto al procedimiento de análisis de datos del termociclador utilizado en la reacción de qPCR, por lo cual se recomienda referirse al manual del instrumento.

Para analizar las curvas de amplificación, es necesario fijar correctamente los siguientes parámetros: línea de base (*baseline*) y valor umbral de fluorescencia (*threshold*). Estos parámetros pueden ser seleccionados de forma automática por el programa, de acuerdo al algoritmo que utiliza, o de forma manual.

Ambos parámetros influyen en la determinación del valor de Ct (ciclo que supera el valor umbral de fluorescencia) para cada muestra.

- La línea de base debe comprender los ciclos de PCR en los cuales la señal de fluorescencia se encuentra por debajo de los límites de detección del instrumento (normalmente un rango de valores de Ct desde 3 a 15).
- El valor umbral de fluorescencia se debe fijar en la fase exponencial de las curvas de amplificación de las muestras positivas para el templado que se analiza. Por lo general, se fija alrededor del 8-12% respecto a la fluorescencia máxima del *plateau* general de las curvas de amplificación.

Criterios de validación del ensayo:

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

Control	Detección en FAM TM (Ct)	Detección en Cal Fluor TM Red 610 (Ct)	Detección en HEX TM (Ct)	Detección en Cy5 TM (Ct)
PC	≤ 33	≤ 33	≤ 33	≤ 33
IC ^[1]	ND o ≥ 40	ND o ≥ 40	ND o ≥ 40	≤ 25
NC	ND o > 40	ND o ≥ 40	ND o ≥ 40	ND o > 36 ^[2]

[1] Opcional como control del correcto desempeño de la reacción RT-PCR.

[2] Eventualmente se pueden observar señales inespecíficas en el NC en el canal Cy5, que suelen aparecer en Ct > 36.

Interpretación de los resultados para las muestras clínicas

- Se considera **muestra detectable para DENV** cuando en el canal de fluorescencia FAM se observa una curva de amplificación que cruza el umbral (*threshold*) dando lugar a un valor de Ct <40.
- Se considera **muestra detectable para ZIKV** cuando en el canal de fluorescencia Cal Fluor Red 610 se observa una curva de amplificación que cruza el umbral (*threshold*) dando lugar a un valor de Ct <40.
- Se considera **muestra detectable para CHIKV** cuando en el canal de fluorescencia HEX se observa una curva de amplificación que cruza el umbral (*threshold*) dando lugar a un valor de Ct <40.



- Se pueden obtener **muestras detectables para más de un blanco viral (DENV, ZIKV y/o CHIKV)** en forma simultánea (cumpliendo las especificaciones antes detalladas).
- Se considera **muestra no detectable** (para DENV, ZIKV y CHIKV) cuando en los canales de fluorescencia FAM, Cal Fluor Red 610 y HEX, las curvas de fluorescencia no cruzan los respectivos umbrales, dando lugar a la ausencia de Ct o lo cruzan con un valor de $Ct \geq 40$, en cada caso. Las muestras deben además detectar el IC, presentando una curva de amplificación en el canal Cy5 que cruce el umbral de fluorescencia con un $Ct < 31$.
- Puede ocurrir para muestras detectables para DENV (canal FAM), ZIKV (canal Cal Fluor Red 610) o CHIKV (canal HEX) que tenga lugar una inhibición de la amplificación del IC (no detectable en canal Cy5), no invalidando el resultado (Ver nota 1 en la tabla que figura a continuación).
- En caso de que una muestra resulte de dudosa interpretación o inválida, se recomienda repetir el ensayo a partir de una nueva purificación del ARN o recolectar una nueva muestra del paciente.

Detección en FAM	Detección en Cal Fluor Red 610	Detección en HEX	Detección en Cy5	Interpretación de la muestra	
Detectable ($Ct < 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	Detectable ($Ct < 31$) o ND ($Ct \geq 31$) ^[1]	Válido	Presencia de ARN de DENV
ND ($Ct \geq 40$)	Detectable ($Ct < 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	Detectable ($Ct < 31$) o ND ($Ct \geq 31$) ^[1]	Válido	Presencia de ARN de ZIKV
ND ($Ct \geq 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	Detectable ($Ct < 40$)	Detectable ($Ct < 31$) o ND ($Ct \geq 31$) ^[1]	Válido	Presencia de ARN de CHIKV
Detectable ($Ct < 40$)	Detectable ($Ct < 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	Detectable ($Ct < 31$) o ND ($Ct \geq 31$) ^[1]	Válido	Presencia de ARN de DENV y ZIKV
Detectable ($Ct < 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	Detectable ($Ct < 40$)	Detectable ($Ct < 31$) o ND ($Ct \geq 31$) ^[1]	Válido	Presencia de ARN de DENV y CHIKV
ND ($Ct \geq 40$)	Detectable ($Ct < 40$)	Detectable ($Ct < 40$)	Detectable ($Ct < 31$) o ND ($Ct \geq 31$) ^[1]	Válido	Presencia de ARN de ZIKV y CHIKV
Detectable ($Ct < 40$)	Detectable ($Ct < 40$)	Detectable ($Ct < 40$)	Detectable ($Ct < 31$) o ND ($Ct \geq 31$) ^[1]	Válido	Presencia de ARN de DENV, ZIKV y CHIKV
ND ($Ct \geq 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	Detectable ($Ct < 31$)	Válido	ARN viral no detectado
ND ($Ct \geq 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	ND ($Ct \geq 40$)	ND ($Ct \geq 31$) ^[2]	Inválido	Repetir

ND: No detectable

[1] La detección del IC en el canal de Cy5 (Cy5 detectable) no es requerida para validar resultados detectables en el canal de FAM, Cal Fluor Red 610 y/o HEX.

[2] Inhibición de la rt-qPCR, problema con la purificación del ARN y/o en la recolección de la muestra clínica.

Un resultado positivo/detectable indica infección por el virus detectado (DENV, ZIKV y/o CHIKV). Un resultado negativo/no detectable no descarta una infección por alguno de estos virus.



LIMITACIONES DEL ENSAYO

- ☐ Cualquier resultado diagnóstico obtenido con este kit debe ser interpretado en conjunto con otros datos clínicos, epidemiológicos y/o de laboratorio.
- ☐ Los resultados negativos no descartan la infección por DENV, ZIKV y/o CHIKV, y no deben ser la única base de decisión de manejo del paciente.
- ☐ Un resultado positivo indica la detección de ácido nucleico del virus específico (DENV, ZIKV y/o CHIKV).
- ☐ Pueden surgir resultados falsos positivos debido a contaminación cruzada, ya sea por muestras que contienen altas concentraciones de los ARN virales o contaminación debido a productos de PCR de reacciones anteriores.
- ☐ Los resultados falsos negativos pueden deberse a: recolección inadecuada de muestras; degradación del ARN viral durante el envío/almacenamiento; la presencia de inhibidores de qPCR en la muestra, etc.

ESPECIFICACIONES DEL ENSAYO

1- Sensibilidad Analítica - Límite de Detección (LoD)

Se determinó la Sensibilidad Analítica del producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection siguiendo las recomendaciones de la guía CLSI EP-17 a partir de paneles de estándares para cada blanco viral (DENV, ZIKV y CHIKV) preparados en rango de concentraciones cercanos al límite de detección (LoD) estimado de la prueba. Para cada virus, se evaluaron al menos 40 réplicas por nivel de concentración.

Tabla 1.1: Análisis del límite de detección de WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection para DENV.

DENV	CONCENTRACIÓN (copias/reacción)				
ENSAYO	10	5	2,5	1,67	1,25
1	7/8	7/8	5/8	2/8	3/8
2	8/8	5/8	2/8	4/8	4/8
3	7/8	3/8	4/8	2/8	0/8
4	8/8	5/8	4/8	5/8	1/8
5	8/8	6/8	6/8	5/8	1/8
TOTAL	38/40	26/40	21/40	18/40	9/40
% POSITIVOS	95	65	52,5	45	22,5



Tabla 1.2: Análisis del límite de detección de WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection para CHIKV.

CHIKV	CONCENTRACIÓN (copias/reacción)				
ENSAYO	75	50	30	16,7	12,5
1	8/8	8/8	8/8	3/8	3/8
2	8/8	8/8	8/8	6/8	2/8
3	8/8	7/8	6/8	2/8	1/8
4	8/8	7/8	2/8	1/8	0/8
5	8/8	8/8	8/8	3/8	1/8
TOTAL	40/40	38/40	32/40	15/40	7/40
% POSITIVOS	100	95	80	38	17,5

Tabla 1.3: Análisis del límite de detección de WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection para ZIKV.

ZIKV	CONCENTRACIÓN (copias/reacción)				
ENSAYO	10	5	2,5	1,67	1,25
1	7/8	8/8	5/8	8/8	1/8
2	8/8	6/8	6/8	2/8	4/8
3	8/8	7/8	5/8	3/8	4/8
4	7/8	6/8	4/8	6/8	5/8
5	8/8	8/8	4/8	3/8	4/8
TOTAL	38/40	35/40	24/40	22/40	18/40
% POSITIVOS	95	88	60	55	45

El análisis de estos datos mediante regresión Probit determinó que el WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection presenta un LoD para un IC95% de 14,26 copias/reacción para DENV, de 46,01 copias/reacción para CHIKV y de 10,06 copias/reacción para ZIKV.

2- Precisión

2.1 - Repetibilidad y Precisión intra-laboratorio

La precisión se determinó a través de la evaluación para cada blanco viral (DENV, ZIKV y CHIKV) de una muestra clínica positiva con carga media (MD-P, MZ-P y MCh-P, respectivamente), una muestra clínica positiva débil cercana al LoD (MD-L, MZ-L y MCh-L, respectivamente), una muestra negativa para los tres blancos virales (MN) y el control positivo del kit (PC DZC/IC) mediante un estudio de 20 x 2 x 2 (días x corridas x réplicas), según las recomendaciones de la guía CLSI EP-05. La repetibilidad y precisión intra-laboratorio se determinó empleando el complemento de análisis estadístico para Microsoft Excel (Analyse-it v6.16). El análisis se realizó en el instrumento CFXOpus96 (BIO RAD). Los parámetros obtenidos se resumen en la **tabla 2.1**.

Tabla 2.1: Estudio de Repetibilidad y Precisión Intra-laboratorio

Blanco (canal)	MUESTRA	CT promedio	N	Repetibilidad		Precisión Inter-ensayo		Precisión Intra-Laboratorio	
				SD	CV	SD	CV	SD	CV
DENV (FAM)	MD-L	34,43	80	0,40	1,2%	0,51	1,5%	0,51	1,5%
	MD-P	26,56	80	0,10	0,4%	0,28	1,1%	0,33	1,2%
	PC DZC/IC	28,73	80	0,12	0,4%	0,25	0,9%	0,25	0,9%
CHIKV (HEX)	MCh-L	33,43	80	0,24	0,7%	0,70	2,1%	0,75	2,2%
	MCh-P	25,93	80	0,09	0,4%	0,41	1,6%	0,49	1,9%
	PC DZC/IC	28,75	80	0,09	0,3%	0,31	1,1%	0,31	1,1%
ZIKV (Cal610)	MZ-L	34,30	80	0,35	1,0%	0,44	1,3%	0,44	1,3%
	MZ-P	25,14	80	0,10	0,4%	0,19	0,8%	0,25	1,0%
	PC DZC/IC	29,35	80	0,15	0,5%	0,26	0,9%	0,28	0,9%
IC (Cy5)	MN	24,47	80	0,09	0,4%	0,21	0,9%	0,27	1,1%
	MD-L	24,74	80	0,14	0,6%	0,25	1,0%	0,35	1,4%
	MD-P	24,52	80	0,10	0,4%	0,29	1,2%	0,33	1,3%
	MCh-L	24,50	80	0,10	0,4%	0,25	1,0%	0,29	1,2%
	MCh-P	24,42	80	0,09	0,4%	0,22	0,9%	0,27	1,1%
	MZ-L	24,53	80	0,12	0,5%	0,24	1,0%	0,29	1,2%
	MZ-P	24,47	80	0,14	0,6%	0,22	0,9%	0,27	1,1%
	PC DZC/IC	28,05	80	0,11	0,4%	0,16	0,6%	0,17	0,6%

N: número de réplicas, SD: desvío estándar, CV: coeficiente de variación, MD-P: muestra clínica positiva carga media de DENV, MD-L: muestra clínica positiva carga débil de DENV, MCh-P: muestra clínica positiva carga media de CHIKV, MCh-L: muestra clínica positiva carga débil de CHIKV, MZ-P: muestra clínica positiva carga media de ZIKV, MZ-L: muestra clínica positiva carga débil de ZIKV, MN: muestra clínica negativa para los tres blancos virales, PC DZC/IC: control positivo. Cal610: Cal Fluor Red 610.

El producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection presenta para todas las muestras evaluadas un coeficiente de variación (CV) $\leq 2,2\%$ tanto para los blancos virales específicos (DENV, CHIKV, ZIKV) como para el Control interno (IC).

2.2 - Precisión inter-laboratorio

La precisión se determinó a través de la evaluación para cada blanco viral de una muestra clínica positiva con carga media (MD-P, MZ-P y MCh-P) y una muestra clínica positiva débil cercana al LoD (MD-L, MZ-L y MCh-L), además de una muestra negativa para los tres blancos (MN) y el control positivo del kit (PC DZC/IC) mediante un estudio de 3 x 5 x 5 (equipos x días x réplicas), según lo recomendado en la guía CLSI EP-05. La precisión inter-laboratorio se determinó empleando el complemento de análisis estadístico para Microsoft Excel (Analyse-it v6.16). Los 3 equipos empleados fueron: CFX96 (BIO RAD), QuantStudio 5 (Applied Biosystems) y CFXOpus96 (BIO RAD).

En la **tabla 2.2** se muestra un resumen con los valores de %CV obtenidos entre equipos (precisión inter-laboratorio).

Tabla 2.2: Estudio de Precisión Inter-laboratorio

Blanco (canal)	MUESTRA	CT promedio	N	Precisión Inter-laboratorio	
				SD	CV
DENV (FAM)	MD-L	34,27	25	0,40	1,2%
	MD-P	26,51	25	0,35	1,3%
	PC DZC/IC	28,77	25	0,28	1,0%
CHIKV (HEX)	MCh-L	33,48	25	0,71	2,1%
	MCh-P	26,02	25	0,74	2,8%
	PC DZC/IC	28,87	25	0,46	1,6%
ZIKV (Cal610)	MZ-L	34,33	25	0,42	1,2%
	MZ-P	25,23	25	0,23	0,9%
	PC DZC/IC	29,37	25	0,15	0,5%
IC (Cy5)	MN	24,49	25	0,22	0,9%
	MD-L	24,66	25	0,23	0,9%
	MD-P	24,47	25	0,24	1,0%
	MCh-L	24,54	25	0,20	0,8%
	MCh-P	24,47	25	0,19	0,8%
	MZ-L	24,51	25	0,19	0,8%
	MZ-P	24,49	25	0,19	0,8%
	PC DZC/IC	27,90	25	0,18	0,6%

N: número de réplicas, SD: desvío estándar, CV: coeficiente de variación, MD-P: muestra clínica positiva carga media de DENV, MD-L: muestra clínica positiva carga débil de DENV, MCh-P: muestra clínica positiva carga media de CHIKV, MCh-L: muestra clínica positiva carga débil de CHIKV, MZ-P: muestra clínica positiva carga media de ZIKV, MZ-L: muestra clínica positiva carga débil de ZIKV, MN: muestra clínica negativa para los tres blancos virales, PC DZC/IC: control positivo. Cal610: Cal Fluor Red 610.

El producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection presenta para todas las muestras evaluadas un coeficiente de variación (CV) $\leq 2,8\%$ tanto para los blancos virales específicos (DENV, CHIKV, ZIKV) como para el Control interno (IC).

3- Especificidad Analítica:

Ensayo *in vitro*

Con el kit WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection se evaluaron ácidos nucleicos correspondientes a microorganismos representativos presentes en muestras de suero o plasma y/o causantes de sintomatología compatible con infecciones por DENV, ZIKV y/o CHIKV que podrían presentar reactividad cruzada y generar resultados falsos positivos. Los microorganismos evaluados se detallan a continuación en la **Tabla 3.1**.

Tabla 3.1: Patógenos incluidos en el análisis de especificidad analítica – *in vitro*

Microorganismos analizados		
Yellow fever virus (YFV)	Influenza A virus (FluA)	Mayaro virus
Saint Louis encephalitis virus (SLEV)	Influenza B virus (FluB)	Citomegalovirus (hCMV)



West Nile virus (WNV)	Hepatitis C virus (HCV)	Adenovirus (HAdV)
Epstein-Barr virus (EBV)	Human Immunodeficiency 1 virus (HIV)	<i>Toxoplasma gondii</i>
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	BK virus	Varicella-zoster virus (VZV)
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	Parvovirus B19	<i>Trypanosoma cruzi</i>
Japanese encephalitis virus (JEV)	Western equine encephalitis virus (WEEV)	<i>Leishmania spp</i>
SARS-CoV-2	Oropouche virus	<i>Plasmodium falciparum</i>

El producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection no presentó reactividad cruzada con ninguno de los patógenos evaluados. Además, se analizó el efecto de los ácidos nucleicos de estos microorganismos en muestras positivas para DENV, ZIKV y CHIKV, sin observarse interferencias en la detección específica de los virus blanco del kit. La ausencia de reactividad cruzada entre dichos virus (DENV, ZIKV y CHIKV) se confirmó al analizar la inclusividad de distintas cepas de relevancia clínica (ver apartado 4).

Análisis in silico

La exclusividad de los oligonucleótidos y sondas con su blanco del kit WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection, fue también analizada in silico mediante NCBI BLASTn. No se encontró reactividad cruzada con ninguno de los microorganismos detallados en la **Tabla 3.2** ni con el genoma humano.

Tabla 3.2: Patógenos incluidos en el análisis de especificidad analítica – in silico

Microorganismos analizados (in silico)		
Usutu virus	Measles virus (Sarampión)	Enterovirus
Lassa virus (<i>Mammarenavirus lassaense</i>)	Hepatitis A virus (Hepatovirus A)	Vaccinia (Viruela)
Ebola virus	Virus de la inmunodeficiencia humana 2 (HIV-2)	<i>Leptospira</i>
Crimean-congo hemorrhagic fever virus	Tick-borne encephalitis virus (TBEV)	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Murray Valley encephalitis virus	Spondweni virus	<i>Treponema pallidum</i>
Human Herpes virus 2	Eastern equine encephalitis virus	<i>Borrelia burgdorferi</i>
Human Herpes virus 6 (a/b)	Ross River virus	<i>Histoplasma</i>
Human Herpes virus 7	Barmah Forest virus	<i>Schistosoma</i>
Human Herpes virus 8	O'nyong-nyong virus	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Human T-cell leukemia virus 1	Rubella virus (Rubéola)	<i>Salmonella</i>
<i>Rickettsia</i>		

Sustancias Potencialmente Interferentes

Se evaluaron muestras con baja carga viral de DENV, ZIKV y CHIKV, en presencia y ausencia de distintos interferentes que podrían estar presentes en el tipo de matriz utilizada. Siguiendo las indicaciones de la guía del CLSI EP-07, se analizaron cada uno de los potenciales interferentes en niveles patológicos recomendados. Para muestras de suero se evaluó el efecto de ADN humano (4 ng/μl), bilirrubina (342 μmol/l), colesterol (13 mmol/l), hemoglobina (2 g/l) y triglicéridos (37 mmol/l). Para muestras de



plasma se ensayó, además, el efecto de exceso de EDTA (13,35 mmol/l). El análisis de las sustancias demostró que no hubo interferencia con la performance del producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection.

4- Inclusividad

Se evaluaron muestras positivas para los diferentes serotipos de DENV y para los distintos linajes de relevancia clínica de ZIKV y CHIKV (**Tabla 4**).

Tabla 4: Análisis de inclusividad con los diferentes serotipos o linajes de DENV, ZIKV y CHIKV.

Blanco viral y Linaje / serotipo	CEPA / aislamiento	Resultado			
		DENV	ZIKV	CHIKV	IC
DENV Serotipo-1	HW (Hawaii)	Detectable	ND	ND	Detectable
DENV Serotipo-2	New Guinea C	Detectable	ND	ND	Detectable
	Thailand /16681/1984	Detectable	ND	ND	Detectable
DENV Serotipo-3	Philippines/H87/1956	Detectable	ND	ND	Detectable
DENV Serotipo-4	8124	Detectable	ND	ND	Detectable
	H241	Detectable	ND	ND	Detectable
ZIKV Linaje Asiático	PF13/251013-18	ND	Detectable	ND	Detectable
	PRVABC59	ND	Detectable	ND	Detectable
ZIKV Linaje Africano	MR766	ND	Detectable	ND	Detectable
	DakArD 41662	ND	Detectable	ND	Detectable
CHIKV Linaje Asiático- americano	aislamiento Argentina 2016	ND	ND	Detectable	Detectable
CHIKV Linaje ECSA	R91064	ND	ND	Detectable	Detectable
	S27 Petersfield	ND	ND	Detectable	Detectable

ND: no detectable

El WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection detecta los cuatro serotipos del DENV, los linajes Asiático y Africano de ZIKV, y los linajes ECSA y Asiático-americano de CHIKV. Así, la detección de todos los serotipos/linajes de relevancia clínica de DENV, ZIKV o CHIKV está garantizada con el diseño de las secuencias de los cebadores y las sondas del producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection.

5- Validación Clínica

La validación clínica del WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection se realizó mediante el análisis de 412 muestras clínicas provenientes de pacientes que presentaron síntomas clínicos compatibles con infección por los blancos virales del kit. Para la evaluación diagnóstica de ZIKV, se utilizaron muestras que fueron obtenidas mediante enriquecimiento de muestras clínicas naturales de suero o plasma sin carga viral detectable. Todas las muestras fueron evaluadas en forma comparativa respecto de



los resultados obtenidos con ensayos de RT-qPCR validados para el diagnóstico de DENV, ZIKV y CHIKV (Tabla 5.1, Tabla 5.2 y Tabla 5.3).

Tabla 5.1: Tabla de contingencia 2 x 2 de comparación entre el WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection y el ensayo diagnóstico de referencia para el blanco DENV.

		Ensayo Referencia – DENV		
		Detectable	ND	TOTAL
WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection - DENV	Detectable	102	0	102
	ND	2	308	310
	TOTAL	104	308	412

ND: no detectable

Tabla 5.2: Tabla de contingencia 2 x 2 de comparación entre el WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection y el ensayo diagnóstico utilizado como referencia para ZIKV.

		Ensayo Referencia – ZIKV		
		Detectable	ND	TOTAL
WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection - ZIKV	Detectable	103	0	103
	ND	0	309	309
	TOTAL	103	309	412

ND: no detectable

Tabla 5.3: Tabla de contingencia 2 x 2 de comparación entre el WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection y el ensayo diagnóstico utilizado como referencia para CHIKV.

		Ensayo Referencia – CHIKV		
		Detectable	ND	TOTAL
WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection - CHIKV	Detectable	106	1	107
	ND	0	305	305
	TOTAL	106	306	412

ND: no detectable

Se analizaron los datos según lo recomendado por las guías CLSI EP-12 y CLSI MM17 para ensayos cualitativos, de manera de obtener los parámetros de desempeño clínico correspondientes.

Con respecto al diagnóstico de DENV (Tabla 5.4) el producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection, presentó un porcentaje de concordancia de positivos (PPA) del 98,1% (IC95: 93,3 – 99,5%) y un



porcentaje de concordancia de negativos (PNA) del 100 % (IC95: 98,8 – 100,0%) respecto a la referencia (criterio de diagnóstico). El equipo mostró un porcentaje de concordancia total (OPA) del 99,5% para el blanco DENV.

Respecto al diagnóstico de ZIKV (**Tabla 5.5**), el producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection presentó un porcentaje de concordancia de positivos (PPA) del 100% (IC95: 96,4 – 100,0%) y un porcentaje de concordancia de negativos (PNA) también del 100 % (IC95: 98,8 – 100,0%) respecto a la referencia. Así, el equipo mostró una concordancia diagnóstica total (OPA) del 100% para el virus ZIKV.

Como se observa en la **Tabla 5.6**, con respecto al diagnóstico de CHIKV el producto WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection presentó un porcentaje de concordancia de positivos (PPA) del 100% (IC95: 96,5 – 100,0%) y un porcentaje de concordancia de negativos (PNA) del 99,7 % (IC95: 98,2 – 99,8%) respecto a la referencia. Por lo tanto, el equipo mostró una concordancia diagnóstica total (OPA) del 99,8 % para el blanco CHIKV.

Tabla 5.4: Desempeño clínico evidenciado por el equipo WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection para el diagnóstico de DENV.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection - DENV	PPA (%)	NPA (%)	OPA (%)
	98,1	100,0	99,5

PPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) de positivos; NPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) de negativos; OPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) total.

Tabla 5.5: Desempeño clínico evidenciado por el equipo WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection para el diagnóstico de ZIKV.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection - ZIKV	PPA (%)	NPA (%)	OPA (%)
	100,0	100,0	100,0

PPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) de positivos; NPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) de negativos; OPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) total.

Tabla 5.6: Desempeño clínico evidenciado por el equipo WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection para el diagnóstico de CHIKV.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection - CHIKV	PPA (%)	NPA (%)	OPA (%)
	100,0	99,7	99,8



PPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) de positivos; NPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) de negativos; OPA: Porcentaje de concordancia (*agreement*) total.

PRESENTACIÓN

Kit para 100 determinaciones (Código 1060092) conteniendo:

1 x 440 uL Master Mix DZC (5x)

1 x 55 uL RT Mix DZC (40x)

1 x → 110 uL Oligo Mix DZC

1 x → 500 uL PC DZC/IC

2 x → 500 uL ICr

2 x 1,85 mL RNase/DNase-free H₂O

BIBLIOGRAFIA

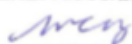
- Burd EM. Validation of laboratory-developed molecular assays for infectious diseases. Clin Microbiol Rev. 2010 Jul;23(3):550-76. doi: 10.1128/CMR.00074-09. PMID: 20610823; PMCID: PMC2901657.
- Cakilci B, Gunduz M. Clinical Microbiology (Chapter 13) in Dorak MT (editor), 2006. Real-time PCR. ISBN 0-4153-7734-X.
- CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
- CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- CLSI. Evaluation of Qualitative, Binary Output examination Performance; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP12; Clinical and Laboratory Standards Institute; 2023.
- CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- CLSI. Molecular Diagnostics Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline-Third Edition. CLSI report MM03. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
- CLSI. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI document M29-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
- CLSI. Validation and Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document MM17. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- CLSI. Collection, Transport, Preparation and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
- Kessler HH. Molecular Diagnostics of Infectious Diseases; 2010. ISBN 978-3-11-021485-7.
- Mackay IM. Real-Time PCR in Microbiology, from diagnosis to characterization. Caister Academic Press, 2007. ISBN 978-1-904455-18-9.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). Directrices para el diagnóstico clínico y tratamiento del dengue, chikunguña y zika. Washington, D.C.: OPS; 2022. ISBN: 978-92-75-32488-2.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). Dengue, chikungunya, and Zika virus infections in Latin America and the Caribbean: a systematic review; 2023. Revista Panamericana de Salud Pública, 47:e34.

TaqMan es marca registrada de Roche Molecular Systems, Inc.

QuantStudio es marca registrada de Applied Biosystems by Thermo Scientific.

CFX y CFXOpus son marca registrada de BIO RAD.

WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

*Proyecto caja*

Wiener lab.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection

eIFU



100



-20°C



2-10°C (transporte/transport)



Cont.

1 x 440 uL Master Mix DZC (5x)
1 x 55 uL RT Mix DZC (40x)
1 x → 110 uL Oligo Mix DZC
1 x → 500 uL PC DZC/IC
2 x → 500 uL ICr
2 x 1,85 mL RNase/DNase-free H₂O

Industria Argentina



1060092



Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario – Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>

Uso profesional exclusivo
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-256
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica

WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA



Wiener lab.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection

Master Mix DZC (5x)

440 uL

 -20°C







Wiener lab.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection

RT Mix DZC (40x)

55 uL

 -20°C







Wiener lab.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection

Oligo Mix DZC

→ 110 uL

 -20°C









Wiener lab.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection

PC DZC/IC

→ 500 uL

 -20°C

IND

LOT



Wiener lab.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection

ICr

→ 500 uL

 -20°C

IND

LOT



Wiener lab.

WGene DENV/ZIKV/CHIKV RT Detection

RNase/DNase-free H₂O

1,85 mL

 -20°C

IND

LOT



WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Año de la Grandeza Argentina

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: Rotulo y Manual de Instrucciones - 74730

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 22 pagina/s.