

3501-0010 (96 reacciones)

SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit

**Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa
reversa en tiempo real**

Instrucciones de uso.








Fabricante:
Wallac Oy,
Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlandia
www.perkinelmer.com






PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

CE


PerkinElmer®

SÍMBOLOS

Símbolo	Título y número de referencia del símbolo	Fuente/Título estándar y número del símbolo	Descripción
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> N.º 5.5.1	ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar	Indica un producto sanitario concebido para utilizarse como producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Código de lote N.º 5.1.5	ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar	Indica el código de lote del fabricante para poder identificar el lote.
	Número de envase	No aplicable	No aplicable
	Número de catálogo N.º 5.1.6	ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar	Indica el número de catálogo del fabricante para poder identificar el producto sanitario.
	Fecha de caducidad N.º 5.1.4	ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar	Indica la fecha después de la que el producto sanitario ya no puede utilizarse.
	Limitación de temperatura N.º 5.3.7	ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar	Indica los límites de temperatura a los que el producto sanitario puede exponerse de forma segura.
	Mantener fuera de la luz solar / Mantener alejado de fuentes de calor N.º 5.3.2	ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar	Indica un producto sanitario que debe protegerse de las fuentes de luz.

Símbolo	Título y número de referencia del símbolo	Fuente/Título estándar y número del símbolo	Descripción
	<p>Contenido suficiente para <n> ensayos</p> <p>N.º 5.5.5</p>	<p>ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar</p>	<p>Indica el número total de pruebas de diagnóstico <i>in vitro</i> que pueden realizarse con los reactivos del kit de diagnóstico <i>in vitro</i>.</p>
	<p>Consúltense las instrucciones de uso</p> <p>N.º 5.4.3</p>	<p>ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar</p>	<p>Indica la necesidad de que el usuario consulte las instrucciones de uso.</p>
	<p>Fabricante</p> <p>N.º 5.1.1</p>	<p>ISO 15223, Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar</p>	<p>Indica el fabricante del producto sanitario tal como se define en las Directivas del Consejo 90/385/CEE, 93/42/CEE y 98/79/CE.</p>
	<p>Este lado arriba</p>	<p>IATA (Asociación Internacional de Transporte Aéreo)</p>	<p>No aplicable</p>
	<p>Reciclable</p>	<p>RESY Organization für Wertstoffentsorgung GmbH</p>	<p>No aplicable</p>

SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit

FINALIDAD DEL KIT

El kit está destinado a la detección cualitativa de los ácidos nucleicos del SARS-CoV-2 (coronavirus 2 causante del síndrome respiratorio agudo grave) en el ARN extraído de muestras obtenidas mediante hisopo orofaríngeo e hisopo nasofaríngeo de humanos como ayuda para el diagnóstico de pacientes con sospecha de COVID-19 (enfermedad por coronavirus) por su proveedor de atención médica. Es necesario establecer una correlación clínica con los antecedentes del paciente y otra información diagnóstica para determinar el estado de infección del paciente.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El ARN del SARS-CoV-2 se detecta normalmente en muestras humanas obtenidas mediante hisopo orofaríngeo y nasofaríngeo durante la fase aguda de la infección vírica por el SARS-CoV-2 [1]. Los resultados positivos son indicativos de la presencia de ARN del SARS-CoV-2. Sin embargo, los resultados positivos no descartan una infección bacteriana o una coinfección por otros virus. Los resultados negativos no excluyen la infección por el SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como única base para tomar decisiones terapéuticas en el paciente. Los resultados negativos deben combinarse con las observaciones clínicas, los antecedentes del paciente y la información epidemiológica.

SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit está destinado para su uso por parte de personal de laboratorio clínico cualificado y formado, específicamente instruido y entrenado en las técnicas de PCR en tiempo real y en los procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIOS DEL ENSAYO

El ensayo de RT-PCR en tiempo real para la detección del SARS-CoV-2 utiliza una técnica de PCR en tiempo real basada en TaqMan™ para realizar la transcripción *in vitro* del ARN del SARS-CoV-2, la amplificación del ADN y la detección de fluorescencia.

El ensayo se dirige a las regiones genómicas específicas del SARS-CoV-2: el gen de la nucleocápside (N) y ORF1ab [2]. Las sondas TaqMan™ para los dos amplicones están marcadas con sondas fluorescentes FAM™ y HEX™ /VIC™, respectivamente, para generar una señal específica de la diana.

El ensayo incluye sondas para la diana de ARN humano que se utiliza como control interno de ARN a fin de controlar los procesos desde la extracción del ácido nucleico hasta la detección de fluorescencia. La sonda de control interno (CI) está marcada con el fluoróforo Cy5® para diferenciar su señal fluorescente del SARS-CoV-2. El ensayo también utiliza un sistema de prevención de arrastre dUTP/UNG de prevención de

TaqMan es una marca comercial de Roche Molecular Systems, Inc.

FAM y VIC son marcas comerciales de Thermo Fisher Scientific.

HEX y QuantStudio son marcas comerciales de Thermo Fisher Scientific.

Cy5 es una marca registrada de GE Healthcare UK Limited.

arrastre para evitar la contaminación de los productos de la PCR y los consiguientes resultados falsos positivos.

CONTENIDO DEL KIT

Cada 3501-0010 SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit contiene reactivos para 96 reacciones que pueden utilizarse en un máximo de cuatro series separadas.

La fecha de caducidad del kit sin abrir viene indicada en la etiqueta exterior. Conserve el kit de -30 a -16 °C. Descongele la mezcla de enzimas en hielo o a una temperatura de +2 a +6 °C. Deje que los demás reactivos se descongelen durante 30 minutos hasta que alcancen la temperatura ambiente (de +19 a +25 °C) antes de usarlos. El kit puede tolerar hasta cuatro ciclos de congelación y descongelación. Una vez abierto, el kit debe usarse en un plazo de 30 días.

Reactivos

Componente	Cantidad	Almacenamiento y caducidad
CoV2 Reagent A (Reactivo A de CoV2)	1 vial, 110 µL	De -30 a -16 °C protegido de la luz hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Tampones, Mg ²⁺ , cebadores, sondas		
CoV2 Enzyme Mix (Mezcla de enzimas de CoV2)	1 vial, 550 µL	De -30 a -16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
ADN polimerasa, transcriptasa reversa del MMLV, dNTP, inhibidor de la RNasa, UNG/dUTP		
CoV2 Positive Control (Control positivo del CoV2)	1 vial, 70 µL	De -30 a -16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Fragmentos de ARN del SARS-CoV-2 en plásmidos		
CoV2 Negative Control (Control negativo del CoV2)	1 vial, 1000 µL	De -30 a -16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Agua libre de nucleasas		

Lot-specific quality control certificate (Certificado de control de calidad específico del lote)	1 unidad
---	----------

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT

El siguiente material es necesario y está disponible en Wallac Oy o PerkinElmer, Inc. y sus distribuidores.

1. Extracción del ARN: Se recomienda utilizar kits de extracción de ácidos nucleicos PerkinElmer (por ejemplo, CMG-1033-S) con el instrumento y el software chemagic™ 360. Puede utilizarse otro sistema equivalente de extracción de ARN.

Además, se necesita lo siguiente:

- RT-PCR en tiempo real: Instrumentos con canales FAM™, HEX™/VIC™ y Cy5® (por ejemplo, sistema LightCycler® 480 de Roche Life Science, QuantStudio™ de Thermo Fisher, CFX96 Real Time System de Bio-Rad)
- Puntas de pipeta con filtro resistentes a aerosoles (para volúmenes de 1–100 µL, 1–200 µL, 100–1000 µL, 1000–5000 µL)
- Placas para PCR de 96 pocillos con faldón completo. Las dimensiones y el espacio entre los pocillos de las placas deben cumplir los estándares ANSI-SBS 1-2004 y 4-2004, y las placas deben tener certificados que garanticen que no contienen DNasa, RNasa ni ADN humano.
- Láminas adhesivas transparentes para placas de PCR de 96 pocillos.
- Pipetas (para volúmenes de 1-100 µL, 1-200 µL, 100-1000 µL, 1000-5000 µL).
- Pipeta multicanal (pipeta de 12 o bien de 8 canales para dispensar 10 µL y 20 µL).
- Agitador Vortex.
- Microcentrífuga para tubos de microcentrífuga de 1.5 mL.
- Aplicador de láminas/películas adhesivas (por ejemplo, Thermo Fisher Scientific Inc., Hampton Research Corp. o Life Technologies Corporation).
- Centrífuga de placas capaz de centrifugar placas de PCR de 96 pocillos a 1600 × g durante 1 min (por ejemplo, Labnet International, Inc.).
- Placa espaciadora de silicona o almohadilla de compresión para la placa de 96 pocillos (por ejemplo, Sigma Aldrich, Inc. o Life Technologies Corporation).

TOMA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

El ARN purificado se utiliza como molde para la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa en tiempo real específica del SARS-CoV-2 que se describe en el apartado de procedimiento del ensayo.

Para la extracción del ARN, se recomienda utilizar kits de extracción de ácidos nucleicos PerkinElmer (por ejemplo, CMG-1033-S) con el sistema chemagic™ 360 o un método equivalente de extracción de ARN.

CUIDADOS Y PRECAUCIONES

Para diagnóstico *in vitro*.

Este kit debe ser utilizado únicamente por personal cualificado.

El uso de este equipo debe ajustarse estrictamente a las directrices de amplificación de ácidos nucleicos para que funcione de conformidad con los requisitos de los laboratorios correspondientes.

Tratar todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.

Todos los residuos deben eliminarse de acuerdo con las normativas locales.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

La preparación de la mezcla de reactivos y la amplificación deben llevarse a cabo en zonas físicamente separadas, utilizando equipo de laboratorio especializado. Para obtener más información, consulte el apartado «NOTAS DEL PROCEDIMIENTO».

Controles del proceso

El kit proporciona control negativo, control positivo y control interno (CI) para supervisar la fiabilidad de los resultados de todo el grupo de muestras, desde la extracción de la muestra hasta la amplificación por PCR.

Procedimiento del ensayo

Utilice guantes desechables y batas de laboratorio específicas en cada área. Cámbiese de guantes a menudo (por ejemplo, al entrar en una nueva zona de trabajo).

Preparación de la PCR (en la primera y segunda área Pre-PCR). **Nota:** Use la primera área Pre-PCR para la preparación de la mezcla de reactivos de PCR y la segunda área Pre-PCR para añadir el ARN.

1. **Descongele los reactivos** (primera área Pre-PCR). Saque el **reactivo A de CoV2**, el **control positivo de CoV2** y el **control negativo de CoV2** del congelador, y colóquelos en el área de preparación de la PCR. La mezcla de enzimas no se congela a temperaturas de -30 a -16 °C pero puede gelificarse. Mantenga el reactivo A de CoV2 **protegido de la luz**. Descongele la mezcla de enzimas sobre hielo o a una temperatura de +2 a +6 °C hasta que haya vuelto a su estado líquido. Deje que los demás reactivos se descongelen durante 30 minutos hasta que alcancen la temperatura ambiente (de +19 a +25 °C) antes de usarlos. Mantenga la mezcla de

enzimas de CoV2 en el congelador hasta que sea necesario usarla en el paso 5 a continuación.

2. **Descongele las muestras.** Saque del congelador las **muestras de ácido nucleico** que van a analizarse y déjelas en la segunda área Pre-PCR.
3. Mezcle en el vortex los reactivos descongelados y después centrifugue a baja velocidad durante unos segundos para recoger el líquido en el fondo de los tubos.
4. Mezcle suavemente las muestras de ARN descongeladas invirtiendo el vial 10 veces y centrifugue brevemente el vial para que el líquido se deposite en el fondo del vial.
5. Saque el **Mix de enzimas de CoV2** del congelador. Mezcle suavemente invirtiendo el vial 10 veces (evitar la formación de espuma y burbujas de aire) y centrifugue brevemente el vial para que el líquido se deposite.
6. Prepare la mezcla de reactivos de PCR **en hielo** según la siguiente tabla. Los controles positivos y negativos deben incluirse en el número de muestras (n(muestras)).

Componente	Volumen
Reactivo A de CoV2	1 μ L/prueba \times n(muestras)
Mix de enzimas de CoV2	5 μ L/prueba \times n(muestras)
Total	6 μ L/prueba \times n(muestras)

Nota: El mix de enzimas es un material viscoso; proceder con precaución al pipetear para garantizar que se transfiera el volumen correcto.

7. Cierre el vial que contiene la mezcla de reactivos de PCR y mezcle suavemente invirtiendo el vial 10 veces (evitar la formación de espuma y burbujas de aire). **Coloque los reactivos del kit sin usar de nuevo en el congelador** a una temperatura de -30 a -16 °C. Mantenga la mezcla de reactivos sobre hielo y protegida de la luz y llevarla al área de muestras.
8. Dispense 6 μ L de la mezcla de reactivos de PCR en cada tubo de PCR/cada pocillo de la placa de PCR.
9. Pase a la segunda área Pre-PCR, y dispense 14 μ L del ácido nucleico extraído en cada tubo o pocillo que contenga mezcla de PCR, cierre las tapas de los tubos o selle bien la placa de PCR usando una lámina adhesiva transparente de PCR y un aplicador de láminas/películas. Mezcle los tubos en el vortex cuidadosamente y centrifúgelos brevemente para eliminar cualquier burbuja. Alternativamente, centrifugue la placa durante 1 min a 1600 \times g y a una temperatura de +19 a +25 °C. Proceda al paso 10 sin demora. Transfiera los tubos o la placa de PCR al área de PCR.

Amplificación (en el área de PCR)

10. Coloque los tubos de PCR/placa de PCR del paso 9 en un termociclador de PCR en tiempo real.
11. Establezca las condiciones de tiempo y temperatura de cada ciclo como se indica a continuación para la amplificación por PCR y la detección de fluorescencia.

Paso	Temperatura	Tiempo	Número de ciclos
1	+25 °C *	2 minutos	1
2	+50 °C	15 minutos	1
3	+95 °C	2 minutos	1
4	+95 °C	3 segundos	45
	+60 °C **	30 segundos	

* Si no es posible ajustar la temperatura a 25 °C en el termociclador (por ejemplo, LightCycler® 480), mantenga la placa de PCR a temperatura ambiente durante dos minutos antes de iniciar el proceso de amplificación.

** Detecta la señal de fluorescencia durante el último paso a +60 °C.

Establezca los canales de fluorescencia como se indica a continuación:

Analito	Control interno (CI)	Gen N	Gen ORF1ab
Canal de detección	Cy5®	FAM™	VIC™ o HEX™

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. Los laboratorios deben tener tres áreas de trabajo físicamente separadas [3]: la primera área Pre-PCR para la preparación de la mezcla de reactivos de PCR, la segunda área Pre-PCR para la adición del ARN, y el área Post-PCR para la amplificación y la detección de productos. Si no hay disponibles tres estancias de laboratorio separadas, las campanas o cabinas sin flujo ("dead air boxes") con luces ultravioleta pueden ofrecer una zona Pre-PCR limpia, y estas campanas se pueden situar en la misma estancia que el área Pre-PCR para la adición del ARN. La zona utilizada para la amplificación y la detección del producto debe estar separada de la(s) zona(s) Pre-PCR.
2. Para evitar la contaminación, los laboratorios deben implementar un flujo de trabajo que minimice los desplazamientos de lugares "sucios" a lugares "limpios" durante las tareas de PCR. Limpio se refiere a las zonas Pre-PCR sin producto de amplificación y donde se preparan las reacciones de amplificación. Las zonas sucias son aquellas zonas del laboratorio Post-PCR con productos de amplificación, donde se produce la amplificación y se utilizan métodos de detección posteriores a la PCR. Durante la limpieza periódica de las zonas de laboratorio, también se debe plantear el uso de un flujo de trabajo de "limpio" a "sucio".
3. La limpieza regular de las superficies de trabajo de las zonas de pipeteo con lejía diluida, enjuagar con agua estéril y secar es una forma eficaz de evitar la contaminación (utilizar lejía recién preparada al 10 %, es decir, aproximadamente un

0.5 % de hipoclorito de sodio). Además, el uso de luces ultravioletas colocadas sobre las superficies de trabajo puede ayudar a evitar la contaminación. Protéjase de la luz ultravioleta siguiendo las instrucciones del fabricante del instrumento.

4. Cada área de trabajo debe tener pipetas, utensilios de plástico, rotuladores y materiales de vidrio específicos. Deben utilizarse puntas de pipeta con filtro resistentes a los aerosoles para pipetear los reactivos y preparar las reacciones de amplificación.
5. Cierre los viales de reactivo inmediatamente después de su uso para evitar la exposición innecesaria a posibles fuentes de contaminación.
6. Guarde las láminas adhesivas en su embalaje original y evite la exposición innecesaria a la luz antes de su uso.
7. Conserve las placas de PCR en sus envases originales antes de usarlas. Evite toda exposición innecesaria a posibles fuentes de contaminación.
8. Antes y después de la incubación térmica, se recomienda asegurarse visualmente de que la placa se ha sellado correctamente. Si se despega la lámina adhesiva puede afectar a los resultados al provocar la evaporación y la contaminación cruzada de los pocillos.
9. Es necesario entender bien estas instrucciones y los manuales del instrumento de PCR en tiempo real para poder utilizar con éxito 3501-0010 SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit. Los reactivos suministrados con este kit están pensados para utilizarlos como una sola unidad. No use los reactivos de un kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del mismo.
10. La velocidad de centrifugación recomendada es de $1600 \times g$. Tenga en cuenta que las revoluciones por minuto (rpm) pueden diferir de los valores de g según el rotor utilizado.
11. Cualquier desviación del procedimiento de ensayo puede afectar a los resultados.
12. Los laboratorios deben respetar las normativas locales y las mejores prácticas a la hora de eliminar las placas/tubos con las reacciones de amplificación que contienen material de las muestras para evitar la contaminación. La eliminación de la muestra del paciente debe cumplir las normativas locales y las políticas institucionales. **Nota: Después de completar el procedimiento de ensayo, las placas de reacción selladas deben desecharse sin abrirlas.** Las reacciones de amplificación selladas también pueden enviarse a un centro fuera del laboratorio para su eliminación o desecharse en bolsas de plástico selladas y esterilizables en autoclave con los demás desechos de laboratorio.

CÁLCULO DE RESULTADOS

Después de completar el ensayo, guardar y analizar los datos siguiendo las instrucciones del instrumento. La mayoría de los instrumentos establecerán automáticamente los parámetros de fondo/línea de base y el nivel del umbral, que a menudo darán lugar a resultados aceptables. En algunos casos, el fondo/la línea de base y el umbral deben

establecerse manualmente para obtener resultados óptimos. El fondo/la línea base normalmente comienza a partir de 3 a 5 ciclos y termina unos ciclos antes de que se produzca una amplificación de fluorescencia significativa. El nivel del umbral debe fijarse al comienzo de la fase exponencial de las curvas de amplificación y por encima de la señal de fondo, como la señal del control negativo.

Realice el análisis de los datos e interprete los resultados tomando como base las tablas que figuran en los apartados «Control de calidad» y «Evaluación e interpretación de los resultados de las muestras de los pacientes».

Control de calidad

Antes de la interpretación de los resultados de las muestras, deben examinarse los resultados de las pruebas del control positivo y del control negativo. El control positivo y el control negativo deben cumplir los requisitos enumerados en la tabla siguiente para garantizar resultados válidos. Si los controles no son válidos, no es posible interpretar los resultados de la muestra.

Control	Ct		
	Gen N (FAM™)	Gen ORF1ab (HEX™/VIC™)	Control interno (Cy5®)
Negativo	Indeterminado o Ct >40	Indeterminado o Ct >40	Indeterminado o Ct >40
Positivo	Ct ≤32	Ct ≤35	No requerido

Control negativo: *ORF1ab* y *N* de SARS-CoV-2 o control interno **no deben** detectarse o Ct debe ser >40.

Control positivo: tanto *ORF1ab* como *N* de SARS-CoV-2 deben detectarse y sus valores de Ct deben ser ≤35 y ≤32, respectivamente; el valor de Ct del control interno no tiene ningún requisito de Ct para el control positivo.

Evaluación e interpretación de los resultados de las muestras de los pacientes

La evaluación de los resultados de las pruebas de las muestras clínicas debe efectuarse después de que se hayan examinado los controles positivos y negativos y se haya confirmado que son válidos y aceptables. Si los controles no son válidos, no es posible interpretar los resultados del paciente.

En la tabla que figura a continuación se presenta un ejemplo de los resultados previstos para el kit con control positivo y control negativo válidos. Los valores de corte para Ct que se presentan a continuación se derivan de estudios de verificación y validación del producto, y el usuario debe determinar sus propios valores de corte de Ct para un rendimiento óptimo.

Ct		Interpretación de los resultados
CI (Cy5®)	N(FAM™), ORF1ab (HEX™)	
≤40	Ambas dianas indeterminadas o >42	SARS-CoV-2 no detectado
No hay requisitos sobre el valor de Ct	Ambas dianas ≤42	SARS-CoV-2 detectado
No hay requisitos sobre el valor de Ct	Una de las dianas ≤42	SARS-CoV-2 detectado*
>40 o sin determinar	Ambas dianas indeterminadas o >42	Resultado no válido, es necesario volver a analizar la muestra volviéndola a extraer o volviéndola a recoger del paciente para hacer la prueba.

* En caso de una diana de SARS-CoV-2 positiva/una diana de SARS-CoV-2 negativa, el resultado es indicativo de una muestra a concentraciones próximas o inferiores al límite de detección de la prueba. La muestra puede volver a analizarse volviéndola a extraer.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Este kit se utiliza para la detección cualitativa de ARN del SARS-CoV-2 a partir de ARN extraído de una muestra obtenida mediante hisopo orofaríngeo e hisopo nasofaríngeo en humanos. Los resultados no reflejan directamente la carga viral en las muestras originales.

Este kit solo es aplicable a los tipos de muestras descritas en el apartado «FINALIDAD DEL KIT». El análisis de otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos. Las muestras que deben analizarse se recogerán, procesarán, conservarán y transportarán según las condiciones especificadas en las instrucciones. La preparación y la manipulación inadecuadas de las muestras pueden dar lugar a resultados inexactos.

Para la extracción de los ácidos nucleicos se recomienda el kit de extracción de ácidos nucleicos PerkinElmer (CMG-1033-S) y el instrumento chemagic™ 360. Si se utilizan otros reactivos o equipos de extracción de ácidos nucleicos, deben verificarse antes de su uso.

Para la amplificación de los ácidos nucleicos se recomiendan el sistema LightCycler® 480 de Roche Life Science, QuantStudio™ de Thermo Fisher y CFX 96 Touch de Bio-Rad. Otros instrumentos de amplificación de ácidos nucleicos deben verificarse antes de su uso.

El límite de detección (LD) se determina tomando como base una confianza de detección del 95 %. Cuando el SARS-CoV-2 está presente en la muestra de análisis en la concentración del LD o por encima de ella, hay una baja probabilidad de que no se detecte el SARS-CoV-2. Cuando el SARS-CoV-2 está presente en la muestra problema por debajo de la concentración del LD, existe una probabilidad baja de que pueda detectarse el SARS-CoV-2.

A la hora de determinar el LD de este kit, se usó un número conocido de copias de ARN de SARS-CoV-2. Los resultados solo son aplicables a este kit, y los números de copias definidos por otros métodos no son necesariamente equivalentes.

Los cebadores y las sondas de este kit se dirigen a regiones altamente conservadas dentro del genoma del SARS-CoV-2. Las mutaciones que se producen en estas regiones altamente conservadas, aunque son raras, pueden hacer que el ARN sea indetectable.

Este kit utiliza un sistema UNG/dUTP de prevención de arrastre de productos de PCR que puede ser eficaz para prevenir la contaminación causada por los productos de PCR. Sin embargo, durante el funcionamiento real, la contaminación de la PCR solo puede evitarse siguiendo estrictamente las instrucciones de los laboratorios de PCR.

Los resultados negativos no descartan la infección por el SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como única base para tomar decisiones de tratamiento o de control en el paciente.

No se han evaluado los efectos de las vacunas, los tratamientos antivíricos, los antibióticos, los tratamientos quimioterápicos o los fármacos inmunosupresores en el rendimiento del ensayo.

Los laboratorios deben notificar todos los resultados positivos a las autoridades de salud pública competentes.

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL ENSAYO

Precisión¹

Se analizaron dos muestras con dianas de ARN a 1 × LD y 5 × LD y control positivo con 40 réplicas en 10 series usando dos instrumentos diferentes y 2 operarios. El coeficiente de variación (CV%) de los valores de Ct de estas muestras fue ≤6 %.

Límites analíticos²

Se determinó que el límite de detección (LD) de este kit es de 1 copia/μL o 20 copias/volumen de reacción para cada diana viral (N y ORF1ab).

Especificidad analítica - Reactividad cruzada³

Coronavirus humano (229E, OC43), coronavirus causante del SARS (plásmido), coronavirus causante del MERS (plásmido), adenovirus (tipo 2, 3, 31, 37 y 51), enterovirus (tipo A y D), rinovirus (tipo A y B), virus de la gripe A (H1N1, H1N1-2009, H3N2), virus de la gripe B, virus respiratorio sincitial, virus de la parainfluenza, virus del sarampión, virus de las paperas, citomegalovirus humano, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*

¹ Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

² Ver arriba

³ Estudio realizado en Suzhou SYM-BIO LifeScience Co., Ltd., Taicang, China.

pyogenes, saliva con *Streptococcus*, virus de la hepatitis A, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple de tipo I, virus del herpes simple de tipo II, virus de la inmunodeficiencia humana de tipo I (VIH-1), virus de la inmunodeficiencia humana de tipo II (VIH-2) y ADN genómico humano; se han analizado con otro kit usando las mismas secuencias diana. Todos los resultados fueron negativos para el SARS-CoV-2, no se observó reactividad cruzada para las secuencias de cebadores y sondas utilizadas en el kit, con estos patógenos o con el ADN.

GARANTÍA

Los resultados aquí presentados se han obtenido por el procedimiento de ensayo indicado. Cualquier cambio o modificación en el procedimiento no recomendado por el fabricante puede afectar a los resultados, en cuyo caso Wallac Oy y sus filiales declinan cualquier responsabilidad y garantía otorgada, expresa o tácita, sobre la comercialización del producto y su uso.

En tal caso, Wallac Oy, sus filiales y sus distribuidores autorizados no asumen ninguna responsabilidad por los daños o perjuicios directos o indirectos.

REFERENCIAS

- [1] Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) in suspected human cases, World Health Organization, 2020.
- [2] China CDC Virus Disease Control and Prevention. Novel coronavirus nucleic acid detection primer and probe sequences (Specific Primers and Probes for Detection Novel coronavirus 2019) [EB / OL]., 2020-01-21.
- [3] Health Protection Agency. Good Laboratory Practice when Performing Molecular Amplification Assays. National Standard Method QSOP. 2018; Q 4, Issue no: 5.

Última revisión abril 2020