

Marzo
2020



Para Uso
Profesional

Logix Smart™ Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)

Para uso bajo Autorización de Uso de Emergencia (EUA –
Emergency Use Authorization) únicamente
Para uso diagnóstico in vitro

LOGIX SMART™ Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)
CO-DIAGNOSTICS, INC.

CO-DIAGNOSTICS, INC. | 2401 Foothill Dr., Ste D, Salt Lake City, UT 84109 USA

REF

COVID-K-001

CE

IVD

Tabla de Contenidos

1	USO PREVISTO	3
2	DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y PRINCIPIO DE LA PRUEBA	3
2.1	Principios de Operación.....	3
3	ALMACENAMIENTO Y MANEJO.....	5
4	MATERIALES REQUERIDOS PERO QUE NO ESTÁN INCLUIDOS EN LA PRUEBA.....	5
4.1	Consumibles requeridos pero no suministrados:	5
4.2	Equipo requerido pero no suministrado.....	5
5	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	6
6	RECOLECCIÓN DE MUESTRAS, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO	6
6.1	Manejo de las Muestras.....	7
6.2	Almacenamiento de Muestras.....	7
6.3	Envío de las Muestras	7
7	PROCEDIMIENTO.....	8
7.1	Preparación de la Muestra.....	8
7.2	Configuración del Reactivo del Logix Smart COVID-19.....	8
7.3	Preparación de la Reacción.....	9
7.4	Preparación del Instrumento PCR para la CoDx Box	9
8	ANÁLISIS DE DATOS.....	10
8.1	Ajustes de Análisis	10
8.2	Controles Positivos.....	10
8.3	Control Negativo.....	11
8.4	La Validez de las Corridas Diagnósticas	11
8.5	Interpretación de Resultados	12
9	RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS.....	13
9.1	Estabilidad.....	13
9.2	Errores de Usuarios.....	13
9.3	Resultados Inválidos.....	13
10	LIMITACIONES.....	14
11	CONDICIONES DE AUTORIZACIÓN PARA EL LABORATORIO	15
12	EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO NO CLÍNICO.....	16
12.1	Límite de Detección (LoD) – Sensibilidad Analítica	16
12.2	Inclusividad (Sensibilidad Analítica):	17
12.3	Reactividad cruzada (Especificidad Analítica) a través de un análisis in silico:	17
12.4	Interferencia Microbiana	18
13	EVIDENCIA CLÍNICA.....	19

14	FABRICANTE Y REPRESENTANTE AUTORIZADO	19
15	References.....	20
16	Legend of Package Symbols	21

1 USO PREVISTO

La prueba de Logix Smart Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) o Logix Smart de la Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19) es una prueba a tiempo real de RT-PCR prevista para la detección cualitativa in vitro del ácido nucleico del síndrome respiratorio agudo y grave del coronavirus 2 (SARS-CoV-2) en fluidos del tracto respiratorio bajo (es decir, en lavado bronco alveolar, esputo, aspiraciones traqueales), y fluidos del tracto respiratorio superior (es decir, nasofaríngeo y muestras bucofaríngeas) de individuos que se sospecha que tienen COVID-19 por su proveedor de salud. La prueba está limitada a laboratorios certificados para realizar pruebas de alta complejidad.

Los resultados son para la identificación del ARN del SARS-CoV-2. El ARN del SARS-CoV-2 es generalmente detectable en fluidos del tracto respiratorio bajo (es decir, lavado bronco alveolar, esputo, aspiración traqueal) durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos son indicativos de la presencia del ARN del SARS-CoV-2; la correlación clínica con el historial del paciente y otra información de diagnóstico es necesaria para determinar el estado de infección del paciente. Los resultados positivos no descartan una infección de bacteria o una coinfección con otros virus. El agente detectado puede no ser la causa definitiva de la enfermedad. Los laboratorios dentro de los Estados Unidos y sus territorios y en muchos otros países son requeridos a que reporten todos los resultados positivos a las autoridades apropiadas de la salud pública.

Los resultados negativos no precluyen una infección del SARS-CoV-2 y no deben ser usados como la única base para decisiones de gestión del paciente. Los resultados negativos deben ser combinados con observaciones clínicas, historial del paciente e información epidemiológica.

El Logix Smart Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19) está previsto para personal de laboratorio clínico entrenado y calificado específicamente instruido y entrenado en las técnicas de procedimientos PCR (reacción en cadena de polimerasa) en tiempo real y diagnósticos in vitro. La prueba Logix Smart de Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19).

2 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba Logix Smart de la Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19) es una prueba de reacción en cadena de polimerasa de transcripción reversa (rRT-PCR) a tiempo real que utiliza la tecnología CoPrimer patentada de la Compañía (Satterfield, 2014) (Poritz & Ririe, 2014). Los sets de CoPrimer SARS-CoV-2 están diseñados para detectar el ARN del SARS-CoV-2 en los fluidos del tracto respiratorio inferior (es decir, lavado bronco alveolar, esputo, aspiraciones traqueales), y fluidos del tracto respiratorio superior (es decir, nasofaríngeo y muestras bucofaríngeas) de individuos que se sospecha que tienen COVID-19 por su proveedor de salud.

El kit de prueba de Logix Smart COVID-19 consiste de los siguientes componentes:

- Mezcla Maestra lista para usar, completa con un control interno positivo de RNasaP para verificar la calidad de la prueba.
- Control Positivo (PC), para verificar el desempeño de la mezcla maestra.
- Agua Libre de Nucleasas como un control negativo, para verificar que la muestra está libre de contaminaciones.

2.1 Principios de Operación

La prueba inicia con la selección del tipo de la muestra, seguido por una recolección de una muestra por un proveedor del cuidado de salud entrenado. La muestra debe ser identificada siguiendo el sistema de calidad del laboratorio y regulaciones actuales. La muestra debe ser almacenada adecuadamente hasta que se realicen las pruebas en las mismas instalaciones o se envíen al laboratorio asignado.

El kit de prueba de ensayo Logix Smart COVID-19 es una prueba multiplexada de un solo paso de PCR de transcripción reversa de PCR en tiempo real que puede ser descompuesta en tres etapas: preparación de

muestra, transcripción reversa, y la reacción en cadena de polimerasa (PCR) con monitoreo de tiempo real. El ensayo también incluye un control interno positivo (IPC) que actúa como un control de extracción para poder confirmar el desempeño de la extracción.

La preparación de la muestra del PCR requiere que las muestras deban ser procesadas para poder descomponer las células y los virus para poder exponer el material genético. Para este proceso, se usa un sistema de extracción que está disponible comercialmente. En este proceso, los ácidos nucleicos y luego son purificados de los fluidos del tracto respiratorio inferior (es decir, lavado bronco alveolar, esputo, aspiración traqueal), o del fluidos del tracto respiratorio superior (es decir, nasofaríngeos y muestras bucofaríngeas) usando el Mini Kit de ARN Viral QIAmp (Qiagen) usando el protocolo delimitado en el manual del producto, "Protocolo: Purificación del ARN Viral (Protocolo de Giro)" usando 140 µl de los fluidos del tracto respiratorio inferior (es decir, lavado bronco alveolar, esputo, aspiración traqueal), o del fluidos del tracto respiratorio superior (es decir, nasofaríngeos y muestras bucofaríngeas). En el caso de muestras de esputo, la muestra debe ser tratada antes de la extracción según los lineamientos de la CDC para el "Procesamiento de Especímenes de Esputo para Extracción de Ácido Nucleico" (CDC, 2020).

El ácido nucleico purificado es luego puesto en la muestra maestra del Logix Smart Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19), 5 µl de cada uno. La muestra maestra está premezclada y contiene los componentes necesarios para poder realizar tanto la transcripción reversa como PCR y no necesita ser preparado por anticipado por el usuario. Las reacciones luego serán puestas en un termociclador utilizando las siguientes condiciones de ciclos: 15 minutos a 45 °C, 2 min a 95 °C, 50 ciclos x [3s a 95 °C, 32s a 55 °C]. El paso de 15 minutos a 45 °C es el paso de transcripción reversa, donde el cADN es creado del formato de ARN. Los 2 minutos a 95 °C es para poder desactivar la transcriptasa reversa y actúa como un paso de desnaturalización inicial para el PCR, el cual luego es seguido para el termo ciclado para el PCR.

Durante el PCR, el FAM etiquetado como CoPrimer frontal actúa como un primer frontal y prueba. Durante la fase de recocido / extensión del PCR, la actividad 5' de nucleasas de las polimerasas Taq degradan la porción del CoPrimer que se ha recocido con la secuencia objetivo, causando la separación espacial entre el fluoróforo y el enfriador, generando una señal fluorescente. Con cada ciclo, las moléculas adicionales de fluoróforo se adhieren a sus puntos respectivos, aumentando la intensidad de la fluorescencia. La intensidad de la fluorescencia es monitoreada al final de cada ciclo por un termociclador de tiempo real, especialmente el CoDx Box.

Table 2.1 Componentes incluidos en el kit de prueba

Color de la Tapa	Componente	Símbolo	Número Individual de Catálogo	Descripción	Cantidad
Negro	Logix Smart Master Mix COVID-19	MM	COVID-MM-001	Mezcla propietaria de CoPrimers™ del SARS-CoV-2 y reactivos PCR	1x500µL (100 reacciones) o 1x1250µL (250 reacciones) o 1x25000 µL (5,000 reacciones)
Rojo	Logix Smart Positive Control COVID-19	PC	COVID-PC-001	Mezcla propietaria de formatos sintéticos de SARS-CoV-2	1x500µL (100 reacciones) o 1x1250µL (250 reacciones) o 1x25000 µL (5,000 reacciones)
Transparente	Nuclease Free Water	NTC	GEN-NF-001	Agua libre de actividad de DNAsas / RNAsas	1x500µL (100 reacciones) o 1x1250µL (250 reacciones) o 1x25000 µL (5,000 reacciones)

3 ALMACENAMIENTO Y MANEJO

- El kit Logix Smart COVID-19 se envía en hielo seco. Los componentes del kit deben llegar congelados. Si uno o más de los componentes no están congelados al recibirse, o se han comprometido durante el envío, contacte a su distribuidor para asistencia.
- Todos los componentes deben almacenarse debajo de -20°C al momento de llegar para prevenir degradación de los reactivos.
- Siempre trabaje con cada componente Logix Smart COVID-19 sobre hielo. Haga alícuotas, como necesario, para evitar múltiples ciclos de congelamiento / descongelamiento.
- Si trabaja en un área predispuesta a pérdidas de energía, se recomienda tener un generador de respaldo para su freezer al igual que un registrador de datos de temperatura para asegurar que el kit de prueba de Logix Smart COVID-19 se mantenga congelado a -20°C.
- Los datos de estabilidad del producto actualmente se están recolectando y los resultados serán publicados y nuevas instrucciones para el uso se actualizarán para reflejar las condiciones de estabilidad.

4 MATERIALES REQUERIDOS PERO QUE NO ESTÁN INCLUIDOS EN LA PRUEBA

El Sistema de Extracción es requerido, pero no incluido en la prueba:

Table 4.1 Sistemas de Extracción validados con la prueba

Opciones de Sistema de Extracción	Número de catálogo	Fabricante
Mini Kit de RNA Viral QIAamp (QIAamp Viral RNA Mini Kit)	52904 (50 extracciones) 52906 (250 extracciones)	Qiagen

Table 4.2 Termocicladores validados pero no incluidos con la prueba

Máquina Termociclador Fabricante	Máquina Termociclador Fabricante
CoDx Box	BMS, Bio Molecular Systems


4.1 Consumibles requeridos pero no suministrados:

- Guantes libres de polvo desechables y batas de laboratorio.
- Puntas de pipetas desechables con filtros
- Blanqueador del 10% u otra solución de limpieza adecuada que degrade los ácidos nucleicos
- Platos PCR o tubos de ensayo en tiras para el termociclador que se está usando.

4.2 Equipo requerido pero no suministrado

- Varias micropipetas capaces de cargar volúmenes de 5 µL a 1000 µL
- Un bloque frío o hielo
- Vórtice y centrífugo
- Gabinete de Bioseguridad Clase II, idealmente en una instalación de contención de BSL-2, para la extracción
- Estación de trabajo PCR, para la colocación de la mezcla maestra y configuración
- CoDx Box (Bio Molecular Systems, distribuida por Co-Diagnostics, Inc.)

5 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

	¡ADVERTENCIA! Antes de realizar cualquier prueba o correr cualquier muestra de un paciente, verifique que todos los instrumentos han sido instalados adecuadamente, calibrados y están en buen estado. No use instrumentos con una calibración fuera de fecha.
---	--

Al igual que con cualquier otro diagnóstico o experimento de laboratorio, las buenas prácticas de biología molecular son esenciales para el desempeño adecuado de la qPCR o cualquier experimento de laboratorio. Se debe prestar atención a los procedimientos en particular a los procedimientos de diagnóstico molecular. Debido a la alta sensibilidad del Logix Smart COVID-19 y la tecnología qPCR, se debe ejercer cuidado cuando se maneja las muestras y los materiales mientras se realizan los ensayos para mantener a los reactivos y las mezclas de amplificación libres de contaminación. Los usuarios deben prestar atención a lo siguiente:

- Use puntas de pipetas estériles con filtros.
- Use precauciones estándar cuando maneja muestras de pacientes, ya que pueden contener agentes infecciosos.
- Almacene y extraiga materiales positivos (especímenes, controles y amplificadores) separadamente de otros reactivos).
- Siempre use agua libre de nucleasas, suministrados de este kit.
- Consulte las Hojas de Datos de Seguridad (SDS – Safety Data Sheets) para su seguridad. Las SDS para el kit de prueba **Logix Smart™ COVID-19** deben ser provistos con el envío. Si no se proveen con el envío, las SDS pueden obtenerse de Co-Diagnostics de la página web en el vínculo:
<http://codiagnostics.com/products/diagnostic-solutions/>
- Para prevenir contaminación, se requiere que use las Buenas Prácticas de Laboratorio para Biología Molecular, la cual requieren un flujo de trabajo unidireccional y la separación de materiales negativos y positivos.
- Por favor, siempre use la versión más reciente de este documento dado que se agrega más información con estudios futuros. Esto se puede descargar de forma gratuita en la página
<http://codiagnostics.com/resources/instructions-for-use/>

6 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO

La selección de muestra, recolección, almacenamiento y manejo juegan una parte esencial en el desempeño de los

ensayos de ácido nucleico. Por ende, se presenta información valiosa aquí para poder ayudar a los laboratorios a desarrollar mejores procedimientos del análisis de resultados y resolución de otros problemas.

Para más información, visite las páginas de la CDC y la OMS en las siguientes direcciones:

CDC - <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/index.html>

WHO - <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>

- a) Fluidos del tracto respiratorio inferior
Lavado bronco alveolar, aspiraciones traqueales: recolecte 2 – 3 mL en una copa de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapa del tipo rosa o un contenedor seco estéril. Refrigerare el espécimen a 2 - 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo.

Esputo: haga que el paciente se lave la boca con agua y luego expectore un esputo tosiendo profundamente directamente en una copa de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapa del tipo rosa o un contenedor seco estéril. Refrigerare el espécimen a 2 - 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo.

b) Fluidos del tracto respiratorio superior

Muestras nasofaríngeas Y muestras bucofaríngeas (muestras NP / OP): use solo hisopos de fibra sintética únicamente con ejes plásticos. No use hisopos de alginato de calcio o hisopos con ejes de madera, dado que pueden contener sustancias que pueden inactivar algunos de los virus e inhibir la prueba del PCR. Coloque las muestras inmediatamente en tubos estériles conteniendo 2 - 3 mL de un medio de transporte viral. Los especímenes NP u OP deben mantenerse en contenedores separados. Refrigere el espécimen a 2 - 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo. Nota para la muestra nasofaríngea: Inserte un hisopo en la fosa nasal paralelo al paladar. Déjela en su lugar por unos segundos para poder absorber secreciones / muestree ambas áreas nasofaríngeas con el mismo hisopo.

Muestra bucofaríngea (es decir, muestra de la garganta): muestree la faringe posterior, evitando la lengua.

Lavado / aspiración nasofaríngea o aspiración nasal: recolecte 2 - 3 mL en una copa de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapa del tipo rosa o un contenedor seco estéril. Refrigere el espécimen a 2 - 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo.

6.1 Manejo de las Muestras

Los trabajadores de los laboratorios deben usar el equipo de protección personal (EPP) adecuado, el cual incluye guantes desechables, bata / traje de laboratorio, y protección ocular cuando estén manejando especímenes potencialmente infecciosos. Los especímenes clínicos de los que se sospecha o se ha confirmado COVID-19 deben conducirse bajo un gabinete de bioseguridad de clase II en una instalación de contención de BSL-2. Más detalles se suministran en la Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos (BMBL) (CDC, 2009) o el Manual de Bioseguridad de Laboratorios de la OMS (WHO, 2004).

Para instrucciones específicas en el manejo de especímenes clínicos para la enfermedad del coronavirus del 2019, vea también la página web de la CDC para los Lineamientos de Bioseguridad de Laboratorios Interinos para el Manejo y Procesamiento de Especímenes Asociados con la Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19) (CDC, 2020)

6.2 Almacenamiento de Muestras

Se recomienda que todos los tipos de especímenes se mantengan a -20 °C por hasta 7 días. Para el almacenamiento superior a 7 días, los especímenes se deben congelar a -70 °C. El congelamiento y descongelamiento repetitivo de un espécimen debe evitarse. Si un espécimen se retiene para volver a hacer pruebas, debe ser colocado en alícuotas en diferentes tubos para poder evitar los ciclos de congelamiento y descongelamiento. La temperatura en las áreas de almacenamiento debe ser monitoreado y registrado regularmente para poder identificar fluctuaciones potenciales. Los refrigeradores / freezers domésticos con fluctuaciones amplias de temperatura no son adecuados para el almacenaje de especímenes congelados (CDC, 2020).

6.3 Envío de las Muestras

Los especímenes que se conocen que son o que se sospechan que tienen SARS-CoV-2 que requieren envío aéreo deben enviarse en hielo seco como una Sustancia Biológica de la Categoría B, UN3373. Las regulaciones internacionales, según se describe en la Guía en Regulaciones para el Transporte de Sustancias Infecciosas 2015 – 2016 de la OMS, deben seguirse (CDC, 2020). Si se necesita de transporte terrestre, el espécimen debe enviarse en un envío expreso con suficiente hielo para mantenerlo congelado durante el tránsito. Después de la recolección de la muestra y la transferencia a un laboratorio clínico, la muestra recibirá ingreso en el sistema de laboratorios.

7 PROCEDIMIENTO

La Organización Mundial de la Salud recomienda registrar el nombre completo, la fecha de nacimiento, la información de contacto y al hora y fecha de recolección de las muestras de los pacientes. Adicionalmente, la información siguiente también puede recolectarse:

- Síntomas, día que iniciaron, duración de los síntomas, contacto con casos conocidos de COVID-19 (por ejemplo, un miembro familiar).
- Historial de viaje comprensivo (fechas, lugares, duración de la visita)

7.1 Preparación de la Muestra

La calidad del ARN de la extracción de la muestra es esencial para el desempeño del Logix Smart COVID-19. El protocolo de extracción debe realizarse siguiendo las instrucciones del fabricante. Sin embargo, debido a la naturaleza mucosa y mucopurulenta, y por ende, viscosa del espécimen del esputo se recomienda el preprocesamiento de la muestra antes de su extracción. Un protocolo suministrado por la CDC y evaluado para el COVID-19 para el procesamiento de muestras de esputo está disponible por la CDC en el siguiente vínculo: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/processing-sputum-specimens.pdf> (CDC, 2020).

Cree una concentración de 500 mM de concentración final de una solución de DTT (Ditiotreitol). La DTT necesita ser preparado en fresco. Descarte cualquier solución de DTT. Agregue 100ul de solución fresca recién reparada de DTT a la solución de 5 mL de 0.1 M PBS (pH 7.2) fría y estéril y mezcle brevemente. En un tubo microcentrífugo, agregue una cantidad de volumen igual de solución DTT - PBS diluida y el esputo del espécimen (es decir 140 µl de esputo + 140 µl de solución DTT – PBS). Los volúmenes pueden ser escalados basado en el número de muestras de esputo que serán procesados. Incube la muestra, mezcle ocasionalmente, a temperatura ambiente hasta que la muestra haya sido licuada, la cual puede tomar hasta 30 minutos. Use la muestra licuada para la extracción de ácido nucleico, siguiendo los lineamientos del Sistema de extracción del fabricante. Retenga cualquier muestra licuada residual a -70 °C. La extracción del ARN usando el Mini Kit de ARN Viral QIAmp® debe ser realizado siguiendo las instrucciones del fabricante usando 140 µL de la muestra, y una elución modificada usando 100 µL del búfer AVE. Para asegurar la remoción de búfer de lavado residual de la muestra antes de la elución, un paso adicional de centrifugación (vea procedimiento de extracción) es requerido usando un nuevo tubo de recolección.



Los búferes de lavado usados en el kit de extracción contienen etanol. Es importante eliminar cualquier rastro de etanol antes de la elución del ácido nucleico. El etanol es un fuerte inhibidor del PCR a tiempo real.

7.2 Configuración del Reactivo del Logix Smart COVID-19

- Cuando se preparan los reactivos, limpie todas las superficies de trabajo con una solución fresca de 10% de solución de blanqueador seguido por alcohol del grado molecular u otro método equivalente de limpieza que desinfecte y degrade los ácidos nucleicos.
- La Muestra Maestra del Logix Smart COVID-19, el Control Positivo (PC), y el agua libre de nucleasas (usado como un control sin formato o NTC) y tubos de muestras deben colocarse en el vórtice por 3 segundos, y brevemente ser girados antes de su uso para poder mezclar los reactivos apropiadamente y para remover cualquier condensación o residuo de las tapas.
- Descongele todos los reactivos y muestras en hielo, o en un bloque frío, antes de iniciar la preparación.

7.3 Preparación de la Reacción

- 7.3.1 Cada preparación de reacción debe incluir suficientes espacios de reacción para el número de muestras y al menos uno positivo y un control sin formato (NTC) (**# de muestras + 2 = total de espacios de reacción necesarios**). Por ejemplo: 5 pruebas de paciente a realizar + 1 espacio PC (control positivo) + 1 espacio NTC = 7 espacios para reacciones.
- 7.3.2 Toda acción con las pipetas debe realizarse sobre **hielo**, de ser posible. Se recomienda que las pipetas de control y elución de muestra se realicen en un área separada, si es posible, o en tiempos separados, luego la mezcla maestra y agua libre de nucleasas. Cambie las puntas de las pipetas entre la elución de muestras y cambie las puntas después de colocar en pipetas cada componente. La pipeta del control positivo de último si es posible, para prevenir eventos de contaminación.
- 7.3.3 Coloque 5 µL de la **Mezcla Maestra** en cada espacio que se use en un plato óptico o tubo de reacción apropiado (por ejemplo: Un instrumento PCR en tiempo real CoDx Box usa 48 espacios de tubos de reacción).
- 7.3.4 Coloque 5 µL de muestra (elución de la extracción de ácido nucleico) o 5 µL de un control (**NTC y Control Positivo**) a los espacios apropiados. Al menos un control positivo y un control NTC deben estar incluidos en cada prueba.
- 7.3.5 Selle el plato de reacción con una película adhesiva óptica o los tubos de reacción con tapas adecuadas.
- 7.3.6 Coloque los platos o tubos en un instrumento PCR en tiempo real en la orientación correcta e inicie la prueba.

7.4 Preparación del Instrumento PCR para la CoDx Box

- 7.4.1 Contacte al laboratorio al 801-438-1036 ext. 04 o a la dirección www.codiagnosics.com/contact/ para descargar el archivo formato. El archivo formato viene preprogramado con la configuración del instrumento PCR descrito en esta sección. Cuando no esté usando el formato, o esté usando otro dispositivo, use los ajustes delimitados a continuación para programar el instrumento PCR CoDx Box.
- 7.4.2 Defina los siguientes ajustes:

Volumen de la Reacción	10 µL
Velocidad de Rampa	Predeterminado
Referencia Pasiva	Ninguna

- 7.4.1 Programe el instrumento PCR con las condiciones de ciclo según a continuación:

Etapa Ciclos	Etapa Ciclos	Etapa Ciclos	Etapa Ciclos
Temperatura	Temperatura	Temperatura	Temperatura
Tiempo	Tiempo	Tiempo	Tiempo
Transcripción Reversa	1	45°C	15 Minutos
Desnaturalización Inicial	1	95°C	2 Minutos
Amplificación	50	95°C	3 segundos
		55°C	32 segundos

7.4.2 Defina los siguientes detectores de fluorescencia (tintes):

Objetivo Nombre del Detector Reportero Enfriador	Objetivo Nombre del Detector Reportero Enfriador	Objetivo Nombre del Detector Reportero Enfriador	Objetivo Nombre del Detector Reportero Enfriador
RNA Específico al COVID-19	COVID-19	FAM™	BHQ® - 1
DNA Específico a RNaseP (IPC)	RNaseP	CAL Flour® Red 610	BHQ® - 2

- Cuando se haya completado la prueba, asegúrese que el archivo de la prueba se haya guardado.

8 ANÁLISIS DE DATOS

Los estudios de verificación y validación realizados para el Logix Smart de Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19) fueron conducidos siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio para ensayos de Biología Molecular (Viana & Wallis, 2011). Si estas condiciones no se cumplieron, el desempeño mostrará mayor variabilidad debido a errores de usuario cuando se conduce el experimento.

8.1 Ajustes de Análisis

Los parámetros de análisis en el CoDx Box deben ser configurados de la siguiente manera, pero después de cada corrida, los ajustes para tanto el canal verde, monitoreando el COVID-19, y el canal anaranjado, monitoreando la RNasaP (PC), deben ser verificados para poder cumplir los siguientes:

- Marcar la caja a “Auto Configurar Umbral”
- “Método” debe ser ajustado a Dinámico.
- “Nivel de Umbral” debe ser configurado 0.100.
- “Inicio del Umbral” debe estar configurado a 1.00
- “Ignorar los Ciclos Anteriores” debe estar configurado a 5
- “Exclusión” debe ser configurado a Extensivo
- “Nivel de Corte de Fluorescencia” debe ser configurado a 5.0%
- “Escala de Eje Y Inicial” debe ser configurado a Linear
- Marque la caja a “Auto Generar Análisis”

8.2 Controles Positivos

Marque el espacio de la reacción del control positivo. Cada control positivo debe mostrar una curva de amplificación para el marcador COVID-19 en el canal FAM y la amplificación del control positivo interno para la RNasaP (IPC) en el canal CF610. Una curva de amplificación positiva debe verse de manera similar a la curva morada en la Figura 8.2 y debe tener un valor Cq debajo de los 45 ciclos.

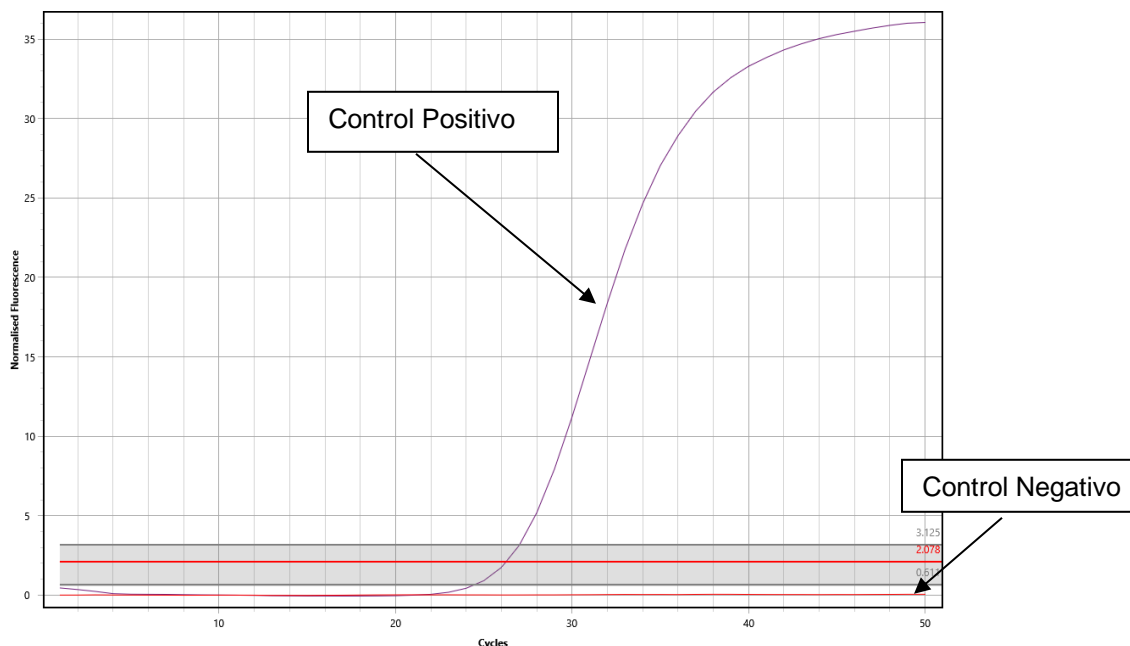


Figura 8.2: Amplificación de Control Positivo (PC) y Control Sin Formato (NTC) para Logix Smart COVID-19

8.3 Control Negativo

Luego seleccione el control negativo. Los resultados del control negativo no deben mostrar amplificación, específicamente con un valor Cq menor a 45. Un ejemplo de ninguna amplificación se puede ver en la Figura 8.2, como la línea roja, la cual está debajo del área del umbral. El área del umbral es la banda gris con la línea roja.

8.4 La Validez de las Corridas Diagnósticas

Revise a ver que tanto el control positivo y el control sin formato hayan pasado.

8.4.1 Las siguientes condiciones de control deben cumplirse:

Tipo de Control	Nombre de Control	Propósito de Control	COVID-19 FAM channel	Control Interno (RNaseP) CF610 channel
COVID-19 Positivo Control	COVID-19 (FAM™)	Verifica el desempeño de la muestra maestra	+	+
	RNaseP (CF®610)			
Control Sin Formato	Mezcla Maestra + Agua	Verifica que los reactivos están libres de contaminación	-	-

- Si el control pasa, interprete los resultados de la muestra.

8.4.2 Corrida de Prueba Inválida

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

8.5 Interpretación de Resultados

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

- Positivo
- Negativo
- Inconcluso

Un resultado **Positivo** mostrará una curva de amplificación o un valor de umbral del ciclo para el COVID-19 en o menor a 45 ciclos. Las curvas de amplificación mayores a 45 ciclos para el COVID-19 están en una zona de incertidumbre. La presencia de una curva con un Cq en o debajo de 45 ciclos para una muestra de COVID-19, indica un resultado positivo. La amplificación del canal de la RNasaP (IPC) muestra que la extracción fue exitosa.

Un resultado **Negativo** no mostrará ninguna amplificación para el coronavirus COVID-19, sin embargo, ocasionalmente ocurren amplificaciones mayores a 45 ciclos que pueden ocurrir en el canal COVID-19 o del RNasaP. Cualquier amplificación mayor a 45 ciclos es una zona de incertidumbre y posiblemente debajo del límite de detección. Una nueva corrida de la misma muestra o una corrida de otra muestra del paciente en los siguientes días debe considerarse. La ausencia de una curva del COVID-19 indica un resultado negativo ÚNICAMENTE cuando el marcador RNasaP (IPC) es positivo.

Un resultado **Inválido** ocurrirá si cualquiera de los controles falla. Vea la resolución de problemas.

La interpretación de los resultados con valores Ct puede traducirse según la siguiente tabla:

Table 8.1 Interpretación de Resultados para COVID-19 por detección de SARS-CoV-2 gen RdRp con Logix Smart COVID-19

	Resultado de la Muestra		Control Positivo Logix Smart™ COVID-19	Control sin Formato (NTC) (Mezcla Maestra + Agua)	Interpretación de Resultados	
	COVID-19 (SARS-CoV-2)	Internal Positive Control (RNaseP) CF610 channel				
Lectura del Instrumento	+	+	+	-	SARS-CoV-2 RNA +	
	-	+	+	-	SARS-CoV-2 RNA -	
	Cualquier resultado (+/-)	-	+	-	-	INVÁLIDO: Vea Resolución de Problemas
		+	-	-	-	
		+	+	+	+	

Cualquier cosa antes de 45 ciclos es considerado una lectura positiva (+). Cualquier cosa después de 45 ciclos es considerado una lectura negativa (-). Cuando sea posible, siempre revise que el historial médico y / o síntomas vayan en conjunto con el resultado antes del tratamiento.

9 RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Co-Diagnostics Inc. valora la retroalimentación de los clientes y quiere estar informado de cualquier problema con el kit Logix Smart COVID-19, incluso si los pasos recomendados para la resolución de problemas resuelven el problema. Para dar retroalimentación por favor llene el Formulario de Retroalimentación del Cliente al visitar la página <https://codiagnostics.com/contact/feedback/>

9.1 Estabilidad

Los estudios de tiempo real y vida útil acelerada y estabilidad en uso están actualmente bajo pruebas. Actualmente, la fecha de vencimiento de este producto ha sido establecido a 12 meses.

Siempre use la versión más reciente de este documento para actualizaciones cuando se agreguen más información de estabilidad cuando se completen los estudios.

9.2 Errores de Usuarios

La Prueba de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) es una técnica que usa el ciclo de temperaturas, y una polimerasa de ADN para poder amplificar una sola o unas cuantas copias de un segmento de ADN o ARN. Las Buenas Prácticas de Laboratorios para Diagnósticos de Biología Molecular (Viana & Wallis, 2011) son necesarias para el uso de este producto. Este producto no tiene la intención de ser usado por personal sin entrenamiento.

El usuario debe tener experiencia en biología molecular y estar familiarizado con las técnicas adecuadas en el uso de pipetas para prevenir errores, tales como salpicaduras, contaminación cruzada, y errores en la selección de volúmenes. Las puntas de las pipetas deben ser reemplazadas después de cada uso de las pipetas. Los guantes deben reemplazarse frecuentemente. El equipo debe tener la calibración al día para las pipetas y termocicladores, cuando aplique.

90 minutos de entrenamiento en línea para las Buenas Prácticas de Laboratorios para las Pruebas de Genética Molecular (Centros de Control y Prevención de Enfermedades, 2017) están disponibles en la página web de la CDC en el siguiente vínculo <https://www.cdc.gov/labtraining/training-courses/good-lab-practices-molecular-genetics-testing.html>

9.3 Resultados Inválidos

9.3.1 El Control Positivo de Logix Smart COVID-19 no está amplificando

La falta de amplificación del control positivo puede ser el resultado de uno o múltiples factores tales como:

- Errores por el uso de pipetas (colocar el control en el espacio incorrecto, haga falta un espacio, colocando la cantidad inadecuada del reactivo),
- Colocación incorrecta de los platos o tubos en el instrumento PCR en tiempo real,
- La degradación de la Mezcla Maestra Logix Smart COVID-19 o de la Prueba de Control Positiva Logix Smart COVID-19 (resultado de que los reactivos se encuentren a temperaturas superiores a los -20°C por un periodo extendido de tiempo),
- Uso de reactivos vencidos,
- O se usaron los reactivos incorrectos.

Sin más evidencia, la corrida debe ser considerada como inválida y el usuario debe volver a probar a través de re-amplificación. Si el control positivo vuelve a fallar, entonces se debe realizar una investigación para identificar las posibles causas de error, y la prueba debe ser reprocesada de la extracción o no, dependiendo de los resultados de investigación y los riesgos identificados en el proceso. Si hay falla en el control positivo, después de la re-extracción y re-amplificación, ocurre por tercera vez, entonces abra un nuevo **Control Positivo Logix Smart COVID-19 o Mezcla Maestra** y vuelva a hacer la prueba. Si sigue fallando, por favor contacte al soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 04 o visitando la página www.codiagnostics.com/contact/.

9.3.2 RNaseP (IPC) no está amplificando en las muestras de los pacientes

La falta de amplificación del canal RNaseP puede ser el resultado de uno o múltiples factores, tales como:

- No hay suficiente material nuclear en la muestra,
- Los inhibidores PCR tales como: etanol y heparina
- La extracción fue realizada incorrectamente
- O el kit de extracción usado no es compatible o tiene un paso que elimina el ADN RNaseP
- El origen de la muestra no es compatible con la prueba que se tiene la intención de usar.
- Nota: Una amplificación Positiva en el canal de COVID-19 indica un resultado positivo a pesar de la falta de la amplificación concurrente del canal IPC. El IPC en los kits de prueba Co-Diagnostics pueden variar debido a la aplicación de la prueba. En la mayoría de los casos, la amplificación es dependiente de la presencia del ADN del genoma humano (gDNA) en la muestra extraída, el monto el cual es gobernado por tipo de muestra y el procedimiento de extracción utilizado. Las muestras obtenidas del cultivo o sitios estériles / puros (es decir, CSF, orina, lisados celulares, etc.) pueden no contener el gene de RNaseP.
- Los resultados deben ser interpretados como **inválidos** y se debe volver a hacer la prueba a través de re-amplificación. Si el IPC vuelve a fallar, entonces las muestras deben ser re-extraídas y re-amplificadas. Si falla después de eso, entonces debe realizarse una investigación para identificar posibles causas del error. Si la causa del error está clara, la prueba entonces puede firmarse como invalida debido a la presencia de inhibidores PCR o la falta de suficiente material nuclear. Si la causa del error no está clara contacte al soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 04 para ayuda o visitando la página www.codiagnostics.com/contact/.

9.3.3 El Control Sin Formato está mostrando amplificación

- La Amplificación de COVID-19 en el Control sin Formato (NTC) indica la contaminación en uno o más de los reactivos, colocación incorrecta del plato o tubo en el instrumento PCR en tiempo real, o errores de uso de pipetas.

Los resultados deben ser interpretados como inválidos y deben realizarse las pruebas nuevamente a través de re-amplificación. Si el NTC falla nuevamente, entonces una investigación debe realizarse para poder identificar posibles causas de error, y la prueba debe ser reprocesada de extracción o no, dependiendo en los resultados de la investigación y riesgos identificados en el proceso. Si la falla de la NTC, después de la re-extracción y re-amplificación, ocurre por una tercera vez, abra otra agua libre de nucleasas y pruebe nuevamente. Si sigue fallando, la corrida debe considerarse como inválida. Por favor contacte al soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 04 o visitando la página www.codiagnostics.com/contact/.

10 LIMITACIONES

- Cumplimiento estricto con este documento es requerido para resultados óptimos. Por favor, siempre use la versión más reciente de este documento. El mismo se puede descargar gratis al: CODIAGNOSTICS.COM/RESOURCES/INSTRUCTIONS-FOR-USE/
- El uso de este producto debe estar limitado a personal entrenado e instruido en técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos IVD.
- Las buenas prácticas de laboratorio son esenciales para el desempeño adecuado de este ensayo. También se recomienda que al momento de recibir los reactivos, se realice una prueba de ensayo para revisar la integridad y el desempeño de los reactivos antes de probar en las muestras de los pacientes.
- Los procedimientos adecuados de colección, transporte, almacenamiento y procesamiento son requeridos para resultados óptimos.

- No use los componentes del kit Logix Smart COVID-19 directamente en los especímenes recolectados. Realice una extracción apropiada de ácido nucleico antes de usar este ensayo.
- La presencia de inhibidores PCR pueden causar negativos falsos o resultados inválidos.
- Las mutaciones potenciales de las regiones objetivo del genoma del COVID-19 cubiertas por esta prueba pueden resultar en la falla de detectar la presencia de los patógenos.
- Tal como cualquier prueba diagnóstica, los resultados para el kit Logix Smart COVID-19 deben ser interpretados con consideración a todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

11 CONDICIONES DE AUTORIZACIÓN PARA EL LABORATORIO

La Carta de Autorización de **Logix Smart COVID-19**, en conjunto con la Hoja de Hechos para Proveedores de Cuidado de Salud autorizada, al Hoja de Hechos para Pacientes, y la rotulación autorizada están disponibles en la página web de la FDA: <https://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/EmergencySituations/ucm161496.htm>.

Sin embargo, para asistir a laboratorios clínicos usando **Logix Smart COVID-19** ("su producto" en las condiciones a continuación), las Condiciones de Autorización relevantes se anotan a continuación:

- A. Laboratorios autorizados¹ usando su producto incluirán los reportes de resultados de su producto, todas las Hojas de Hechos Autorizados. Bajo circunstancias exigentes, otros métodos apropiados para diseminar estas hojas de Hechos pueden ser usados, lo cual puede incluir medios masivos.
- B. Laboratorios autorizados utilizando su producto utilizarán su producto según se delimita en las Instrucciones de Uso. Las desviaciones de los de los procedimientos autorizados, incluyendo los instrumentos autorizados, métodos de extracción autorizados, tipos de especímenes clínicos autorizados, materiales de control autorizados, otros reactivos auxiliares autorizados y materiales autorizados requeridos para usar su producto no son permitidos.
- C. Los laboratorios autorizados que reciban su producto notificarán a las autoridades de salud pública relevantes de su intención de correr su producto antes de iniciar las pruebas.
- D. Los laboratorios autorizados usando su producto tendrán un proceso en su lugar para reportar los resultados a los proveedores de cuidado de salud y a las autoridades de salud pública relevantes, según sea apropiado.
- E. Los laboratorios autorizados recolectarán la información sobre el desempeño de su producto y lo reportarán a la DMD/OHT7-OIR/OPEQ/CDRH (vía correo electrónico a: CDRH-EUA-Reporting@fda.hhs.gov) y a Co-Diagnostics Inc. (teléfono: +1 (801) 438-1036 / info@codiagnostics.com) de cualquier ocurrencia sospechada de un resultado positivo falso o de un negativo falso y una desviación significativa de cualquier característica del desempeño establecida de su producto del cual ellos se pueden poner al tanto.
- F. Todo el personal del laboratorio usando su producto debe estar entrenado adecuadamente en las técnicas de RT-PCR y usar el equipo de protección personal y de laboratorio cuando se maneja este kit, y usar su producto en concordancia con la rotulación autorizada.
- G. Co-Diagnostics Inc, sus distribuidores autorizados y laboratorios autorizados usando su producto se asegurarán de que cualquier registro asociado con este EUA se mantiene hasta que se notifique lo contrario por la FDA. Tales registros se harán disponibles a la FDA para inspección al momento de su solicitud.

¹ La carta de autorización se refiere a, "Los laboratorios de los Estados Unidos (U. S.) que estén certificados bajo las Enmiendas de Mejoras de Laboratorios Clínicos (CLIA – Clinical Laboratory Improvement Amendments) de 1988, 42. U.S.C. 42 U.S.C. §263a, para realizar pruebas de alta complejidad como "laboratorios autorizados".

12 EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO NO CLÍNICO

La evaluación analítica del desempeño fue realizada con muestras artificiales al colocar en un ARN Genómico de SARS-CoV-, un aislado USA-WA1/2020 (BEI Resources, número de catálogo NR - 52285) en una matriz clínica negativa de principalmente esputo, lavado bronco alveolar (BAL – bronchoalveolar lavage), fluido nasofaríngeo, y muestras nasales adquiridas de Discovery Life Sciences o donaciones.

12.1 Límite de Detección (LoD) – Sensibilidad Analítica

El Límite de Detección (LoD) es la concentración más baja del analito que se detecta a una tasa no menor del 95%.

El experimento fue realizado a través del uso de un ARN genómico del SARS-CoV-2, un aislado USA-WA1/2020 (BEI Resources, número de catálogo NR – 52285) el cuál fue colocado en muestras de esputo después del paso de lisis del Mini Kit de ARN Viral QIAmp (Cat#52904) para prevenir la degradación del ARN antes de la lisis. Las extracciones fueron realizadas usando un instrumento QIAcube, con 140 µL de una muestra sintética y una elución de 100 µL. Las extracciones fueron inyectadas con 10,000; 5000; 1000; 600; y 50 copias totales después del paso de lisis. Después del proceso de extracción, los extractos luego fueron probados usando el protocolo del kit de prueba Logix Smart COVID-19. El LoD fue confirmado al correr al menos 20 réplicas, a la concentración LoD, el cual fue determinado a 600 copias.

Table 12.1 Tasa de Detección de la Cepa del ARN Genómico SARS-CoV-2 (aislado US-WA1/2020) en el esputo

Concentración Total / Muestra	# de Muestras	# de Detecciones	Tasa de detección (%)	Cq Promedio	SD (Desviación Estándar)	CV% (Coeficiente de Variación)
10,000 copias	16	16	100.00	31.55	0.31	0.98
5,000 copias	16	16	100.00	32.22	0.26	0.82
1,000 copias	16	16	100.00	35.06	0.83	2.36
600 copias	16	16	100.00	35.30	0.73	2.08
50 copias	16	1	6.25	38.22	-	-
Control Positivo (PC)	2	2	100.00	26.80	0.10	0.38
Agua Libre de Nucleasas	6	0	0	0	0	0
Extracción Negativa (Blanco)	8	0	0	0	0	0

Después que esas corridas fueron completadas, 600 copias totales (4.29 copias / µL en la muestra del paciente) fue la concentración mínima con al menos una tasa de detección de 95%. 21 réplicas, inyectadas con 600 copias totales, fueron corridas. Los resultados de esa corrida se muestran en la Tabla 12.2.

Table 12.2 Confirmación de la LoD

Total de Copias / Muestra	# de Muestras	# de Detecciones	Tasa de Detección (%)	Cq Promedio	SD (Desviación Estándar)	CV% (Coeficiente de Variación)
600 copias	21	21	100.00	35.75	0.66	1.85

El Límite de Detección (LoD) fue confirmado a ser 600 copias totales en un esputo de 140 µL, el cual es una concentración de 4.29 copias / µL o 4,290 copias / mL en la muestra sintética inicial de pacientes.

12.2 Inclusividad (Sensibilidad Analítica):

12.2.1 Inclusividad *in silico*

Una alineación se realizó con secuencias de CoPrimer (Co-Cebadores) oligonucleótidos de los CoPrimers (Co-Cebadores) del COVID-19 con todas las secuencias de ácidos nucleicos públicamente disponibles para el SARS-CoV-2 en GenBank, al igual que la base de datos de la GISAID para demostrar la inclusividad predicha de la Prueba Logix Smart COVID-19.

Co-Diagnostics ha estado realizando revisiones consistentes de la alineación de la secuencia para monitorear la conservación de la secuencia al analizar los datos genómicos de mutación filogenética halados de NextStrain de la base de datos GISAID. La primera alineación se realizó el 1 de Feb del 2020, con la última consulta realizada el 18 de Marzo del 2020. Las secuencias fueron obtenidas de la página <https://github.com/nextstrain/ncov/blob/master/data/metadata.tsv>

Los datos de alineación y análisis actualizados posteriores han mostrado un 100% de identidad para tanto los CoPrimers (Co-Cebadores) delanteros y reversos en la base de datos GISAID. Por lo tanto, no hay ninguna predicción de un resultado negativo falso basado en los datos disponibles.

12.2.2 Inclusividad de prueba húmeda

En el estudio de muestras sintéticas corridas con el ARN Genómico del SARS-CoV-2, aislado USA-WA1/2020 (BEI Resources, número de catálogo NR-52285), todas las muestras positivas fueron detectadas mostrando una tasa de detección del 100% para el SARS-CoV-2.

12.3 Reactividad cruzada (Especificidad Analítica) a través de un análisis *in silico*:

Las consultas de Análisis *in silico* y BLASTn de los CoPrimers (Co-Cebadores) del SARS-CoV-2, fueron realizados en contra de secuencias de nucleótidos del dominio público. Los parámetros de la búsqueda de la búsqueda fueron los siguientes: 1) La recolección de nucleótidos consiste de secuencias GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + RefSeq, pero excluye EST, STS, GSS, WGS, TSA, secuencias patentadas al igual que secuencias fase 0, 1 y 2 HTGS y secuencias mayores a 100Mb; 2) La base de datos es no redundante. Las secuencias idénticas han sido combinadas en un solo ingreso, mientras que se preserva el acceso, GI, título e información taxonómica de cada entrada; 3) La base de datos es revisada consistentemente para detectar posibles mutaciones en la región objetivo; 4) Los parámetros de la búsqueda se ajustan automáticamente para secuencias de ingreso cortas y se espera que el umbral sea de 1000; 5) Las calificaciones de concordancia y discordancia son de 1 y -3 respectivamente, 6) la penalidad para crear y extender una brecha en el alineamiento es de 5 y 2 respectivamente. 7) BLASTn fue corrido individualmente para cada organismo solicitado para el proceso de pre-aplicación (*in silico*) de lineamientos EUA de la FDA. La Tabla 11.2 muestra la lista de microorganismos relevantes analizados *in silico*.

Ningún otro coronavirus, a diferencia del SARS-CoV-2, u otra microflora humana, tuvieron alguna detección con <5 de discordancias o >80% de homología total que podría predecir un resultado potencial de positivo falso en el RT-PCR.

Los CoPrimers tienen un perfil de riesgo de reactividad cruzada ligeramente diferente que los cebados tradicionales. Debido a los bajos Tm de las secuencias de Cebador y Captura, los CoPrimers son más susceptibles a discordancias. Nuestros experimentos internos muestran que una sola discordancia con directo o reversa causa un retraso observable en la amplificación, causando una supresión significativa en la señal. 3+ discordancias en la directa y reversa combinadas se esperan que resulten en una amplificación no detectable.

Los resultados sugieren que el Logix Smart COVID-19 no hace una reacción cruzada a cualquier organismo no objetivo que fue probado en la prueba húmeda o en el análisis *in silico*. Las muestras negativas no mostraron ninguna amplificación, por lo tanto, ningún positivo falso ocurrió debido a reactividad cruzada. Las muestras

positivas en la presencia de material genético no reduce la habilidad de la prueba del Logix Smart COVID-19 a producir resultados positivos.

Table 12.3 Los microorganismos incluidos en la evaluación in silico de reactividad cruzada

Patógenos de alta prioridad de la misma familia genética	Organismos de alta prioridad que probablemente se encuentran en el área circundante	Otros microorganismos de importancia
Coronavirus humano 229E	Adenovirus	Influenza C
Coronavirus humano OC43	Metapneumovirus humano (hMPV)	Parechovirus
Coronavirus humano HKU1	Parainfluenza virus 1-4	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Coronavirus humano NL63	Influenza A & B	<i>Legionella non-pneumophila</i>
SARS-coronavirus	Enterovirus	<i>Bacillus anthracis</i> (Anthrax)
MERS-coronavirus	Respiratory syncytial virus	<i>Moraxella catarrhalis</i>
	Rhinovirus	<i>Neisseria elongata</i>
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
	<i>Haemophilus Influenza</i>	Leptospirosis
	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Chlamydia psittaci</i>
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Coxiella burnetii</i> (Q-Fever)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
	<i>Bordetella pertussis</i>	
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	
	Lavado nasal humano – para representar la flora microbiana diversa en el tracto respiratorio humano	
	<i>Candida albicans</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
	<i>Staphylococcus salivarius</i>	

12.4 Interferencia Microbiana

Ningún microorganismo en el análisis in silico ha revelado una homología mayor al 80% entre los microorganismos de reactividad cruzada, incluyendo los de relevancia anotados en la Tabla 11.2 y los CoPrimers.

13 EVIDENCIA CLÍNICA

La evidencia clínica fue establecida al producir 180 muestras sintéticas inyectadas con el ARN Genómico del SARS-CoV-2, aislado USA-WA1/2020 (BEI Resources, número de catálogo NR-52285) en diluciones de 600, 1000, 5000 y 10,000 copias genómicas por muestra (entrada de muestra de μL). Las muestras sintéticas aleatorizadas fueron extraídas usando el Mini Kit de ARN Viral QIAmp (Qiagen, número de catálogo 52904 / 52906) y se probó con el **Logix Smart Enfermedad del Coronavirus 2019 (COVID-19)**. La tasa de detección para el Logix Smart COVID-19 se muestra en la Tabla 13.1. Los resultados también mostraron una consistencia de resultados de control positivos.

Table 13.1 Tasa de Detección de Muestra Aleatorizada Sintética

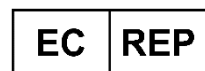
Concentración de la Muestra	# de Muestras	# de Detecciones	% de Resultados Positivos (Intervalo de Confianza)	Cq Promedio	SD (Desviación Estándar)	CV% (Coeficiente de Variación)
600 (copias genómicas / extracción) ($\approx 1x$ LoD)	9	9	100 (CI 86.7 – 100)	33.21	0.57	1.7
1000 (copias genómicas / extracción) ($\approx 2x$ LoD)	51	51	100 (CI 86.7 – 100)	34.11	0.77	2.3
5000 (copias genómicas / extracción) ($\approx 9x$ LoD)	15	15	100 (CI 86.7 – 100)	31.63	0.34	1.1
10,000 (copias genómicas / extracción) ($\approx 14x$ LoD)	15	15	100 (CI 86.7 – 100)	30.59	0.38	1.2
Muestra Aleatoria Sintética Negativa	90	0	0 (No Aplica)	No Aplica	0	0

14 FABRICANTE Y REPRESENTANTE AUTORIZADO



Fabricante:

Co-Diagnostics, Inc
 2401 S Foothill Dr. Ste D
 Salt Lake City, UT 84109
 Teléfono: +1 (801) 438-1036
 Correo Electrónico: info@codiagnostics.com
 Página web: www.codiagnostics.com



Representante Autorizado:

mdi Europa GmbH
 Langenhagener Str. 71
 D-30855 Hannover-Langenhagen
 Germany


















Phone: +49 511 39 08 95 30
 Email: info@mdi-europa.com
 Website: www.mdi-europa.com



15 REFERENCES

- CDC. (2009). *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition*. Retrieved from CDC Laboratories: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>
- CDC. (2020, Feb 20). *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) - Information for Laboratories: Real-Time RT-PCR Resources*. Retrieved Mar 8, 2020, from Centers for Disease Control and Prevention: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/index.html>
- CDC. (2020, Feb 7). *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Information for Laboratories*. Retrieved from Centers for Disease Control and Prevention: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/processing-sputum-specimens.pdf>
- CDC. (2020, Feb 16). *Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. Retrieved September 15, 2018, from World Health Organization: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Flab-biosafety-guidelines.html
- Centers for Disease Control and Prevention. (2017, Oct 27). *CDC Laboratory Training: Good Laboratory Practices for Molecular Genetics Testing*. Retrieved Mar 5, 2019, from CDC: <https://www.cdc.gov/labtraining/training-courses/good-lab-practices-molecular-genetics-testing.html>
- Poritz, M., & Ririe, K. (2014, Mar). Getting things backwards to prevent primer dimers. *Journal of Molecular Diagnosis*, 159-62. doi:10.1016/j.jmoldx.2014.01.001
- Satterfield, B. (2014, Mar). Cooperative primers: 2.5 million-fold improvement in the reduction of nonspecific amplification. *Journal of Molecular Diagnosis*, 163-73. doi:10.1016/j.jmoldx.2013.10.004
- Viana, R. V., & Wallis, C. L. (2011). Good Clinical Laboratory Practices (GLCP) for Molecular Based Tests Used in Diagnostic Laboratories. In D. I. Akyar, *Wide Spectra of Quality Control* (pp. 29-52). InTech. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/wide-spectra-of-quality-control/goodclinical-laboratory-practice-gclp-for-molecular-based-tests-used-in-diagnostic-laboratories>
- WHO. (2004). *Laboratory Biosafety Manual*. Retrieved from Emergencies preparedness, response: https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

16 LEGEND OF PACKAGE SYMBOLS

	<i>Dispositivo Médico de Diagnóstico in vitro</i>		Proteja de la luz
	Número de Catálogo		Límite de Temperatura
	Código de Lote		Consulte Instrucciones para su Uso
	Color de Tapa		Producto no estéril – no esterilice
	Componente		Fabricante
	Contenido / Volumen		Representante Autorizado en la Comunidad Europea
	Número		Marcación para IV Den cumplimiento con la Directiva de la UE 98/79/EC
	Usar para la fecha		Para uso en prescripción únicamente
	Contiene suficiente para pruebas / reacciones		