

Octubre
2021



Logix Smart™ SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)

Para usar en el diagnóstico *in vitro*

Logix Smart™ SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)
CO-DIAGNOSTICS, INC.

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

REF

COVID-K-002

CE

IVD

TABLA DE CONTENIDO

1	Uso previsto.....	3
2	Descripción del producto y principio de prueba.....	3
2.1	Principios de funcionamiento.....	4
3	Almacenamiento y manejo de reactivos.....	6
4	Materiales necesarios que no se incluyen con la prueba.....	6
4.1	Consumibles necesarios, pero no incluidos:.....	7
4.2	Equipo necesario, pero no incluido:.....	7
5	Advertencias y precauciones.....	7
6	Toma, manipulación, transporte y almacenamiento de las muestras.....	8
6.1	Manejo de muestras.....	10
6.2	Almacenamiento de muestras.....	10
6.3	Envío de muestras.....	10
7	Procedimiento.....	11
7.1	Preparación de muestras.....	11
7.2	Configuración del reactivo Logix Smart SARS-CoV-2.....	14
7.3	Preparación de la reacción.....	14
7.4	Preparación del instrumento qPCR para la caja CoDx.....	15
7.5	Preparación del instrumento qPCR.....	15
8	Análisis de los datos.....	16
8.1	Configuración de análisis.....	17
8.2	Controles positivos.....	17
8.3	Control negativo.....	18
8.4	Validez de las pruebas de diagnóstico.....	19
8.5	Interpretación de los resultados.....	19
9	Diagnóstico y resolución de problemas.....	21
9.1	Estabilidad.....	21
9.2	Errores de usuario.....	21
9.3	Resultados inválidos.....	22
10	Limitaciones.....	24
11	Evaluación analítica.....	24



11.1	Precisión.....	25
11.2	Límite de detección (LoD) - Sensibilidad analítica.....	25
11.3	Inclusividad (sensibilidad analítica):.....	28
11.4	Reactividad cruzada (Especificidad analítica) por un análisis <i>in silico</i> :.....	32
11.5	Exclusividad de la prueba en húmedo.....	33
11.6	Exactitud del diagnóstico	36
11.7	Resumen de desempeño.....	37
12	Fabricante y representante autorizado	38
13	Referencias	38
14	Leyenda de los símbolos de los envases	40

1 USO PREVISTO

La prueba Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E) es una prueba múltiple de RT-PCR en tiempo real destinada a la detección cualitativa *in vitro* de ácido nucleico del síndrome respiratorio agudo severo del coronavirus 2 (SARS-CoV-2), dirigida a los genes RdRp en la región poligénica Orf1ab y el gen E del genoma del virus en las muestras del tracto respiratorio inferior (e. por ejemplo, lavado broncoalveolar, esputo, aspirado traqueal), en muestras de las vías respiratorias superiores (por ejemplo, frotis nasofaríngeos y orofaríngeos), y en saliva de las personas que se sospecha que han contraído el COVID-19.

Los resultados corresponden a la identificación del ARN del SARS-CoV-2. El ARN del SARS-CoV-2 generalmente se detecta en muestras de las vías respiratorias inferiores (por ejemplo, lavado broncoalveolar, esputo, aspirado traqueal), muestras de las vías respiratorias superiores (por ejemplo, frotis nasofaríngeos y orofaríngeos) y saliva durante la fase aguda de la infección. Si los resultados son positivos, ello indica la presencia de ARN del SARS-CoV-2; es necesario que exista una correlación clínica con la historia del paciente y otra información diagnóstica para determinar si el paciente está infectado. Los resultados positivos no descartan una infección bacteriana o una infección conjunta con otros virus. Es posible que el agente detectado no sea la causa definitiva de la enfermedad. Muchos laboratorios están obligados a informar de todos los resultados positivos a las autoridades de salud pública competentes.

Los resultados negativos no descartan la infección por el SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como única base para tomar decisiones sobre el tratamiento de los pacientes. Los resultados negativos deben combinarse con las observaciones clínicas, la historia del paciente y la información epidemiológica.

La prueba Logix Smart SARS-CoV-2 está destinada a ser utilizada por personal de laboratorio clínico cualificado y capacitado, específicamente instruido y entrenado en las técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

2 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y PRINCIPIO DE PRUEBA

La prueba Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E) es una prueba múltiple de reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (rRT-PCR) que utiliza la tecnología patentada CoPrimer de la Compañía (Satterfield, 2014) (Poritz & Ririe, 2014). La prueba Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E) es una prueba múltiple de reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (rRT-PCR) que utiliza la tecnología patentada CoPrimer de la Compañía (Satterfield, 2014) (Poritz & Ririe, 2014). Los dos conjuntos de CoPrimer del SARS-CoV-2 (un conjunto para el gen RdRp y un segundo conjunto para el gen E) están diseñados para detectar el ARN del SARS-CoV-2 en muestras de las vías respiratorias inferiores (por ejemplo, lavado

broncoalveolar, esputo, aspiración traqueal), muestras de las vías respiratorias superiores (por ejemplo, frotis nasofaríngeos y orofaríngeos) y saliva de pacientes que se sospecha que tienen COVID-19.

Cada kit de prueba Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E) consta de los siguientes componentes:

- Mezcla maestra lista para usar, con control positivo interno RNaseP para verificar la calidad de la muestra.
- Control Positivo (PC), para verificar el rendimiento de la mezcla maestra.
- Agua libre de nucleasas como control negativo, para verificar que la mezcla maestra no esté contaminada.

2.1 Principios de funcionamiento

La prueba comienza con la selección del tipo de muestra, seguida de la recolección de la muestra por un profesional de la salud capacitado. Se debe identificar la muestra siguiendo el sistema de calidad del laboratorio y la normativa vigente. Es necesario que la muestra se almacene adecuadamente hasta la realización de la prueba en la misma sede o hasta su envío al laboratorio asignado.

El ensayo del kit de prueba Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E) es una prueba de PCR de transcripción inversa en tiempo real de un solo paso multiplexada que se puede dividir en 3 etapas: preparación de la muestra, transcripción inversa y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con monitoreo en tiempo real. El ensayo también incluye un control positivo interno (IPC) que se utiliza como control de la extracción para confirmar el rendimiento de esta.

Para preparar las muestras para la PCR es necesario procesarlas para separar las células y los virus a fin de exponer el material genético. Para este proceso se utiliza un sistema de extracción disponible en el mercado. En este proceso, se aíslan y purifican los ácidos nucleicos de los fluidos del tracto respiratorio inferior (por ejemplo, lavado broncoalveolar, esputo, aspirado traqueal), o de los fluidos del tracto respiratorio superior (por ejemplo, frotis nasofaríngeos y orofaríngeos).

A continuación, se aplica al ácido nucleico purificado la mezcla maestra Logix Smart SARS-CoV-2, 5 µl de cada uno. La mezcla maestra viene premezclada y contiene los componentes necesarios para realizar tanto la transcripción inversa como la PCR y no es necesario que el usuario la prepare con antelación. Las reacciones de la placa se colocarán en el termociclador utilizando las siguientes condiciones de ciclo: 15 min a 45° C, 2 min a 95° C, 45 ciclos x [3s a 95° C, 32s a 55° C]. El paso de 15 minutos a 45° C es el paso de transcripción inversa, en el que el ADNc se crea a partir de la plantilla de ARN. Los 2 minutos a 95° C son para desactivar la transcriptasa inversa y actúa como el paso de desnaturalización inicial para la PCR, que es seguido por el termociclaje para la PCR.

Durante la PCR, el FAM etiquetado como CoPrimer hacia adelante actúa como iniciador y sonda de avance. Durante la fase de recocido/extensión de la PCR, la actividad de 5' de la polimerasa Taq degrada la porción de CoPrimer que se ha recocido a la secuencia deseada, causando la separación espacial entre el fluoróforo y el extintor, lo que genera una señal fluorescente. En cada ciclo, las moléculas adicionales de fluoróforos se separan de sus respectivas sondas, lo que aumenta la intensidad de la fluorescencia. La intensidad de la fluorescencia se controla al final de cada ciclo por medio del termociclador en tiempo real, específicamente la Caja de CoDx. Consulte Tabla 1 para componentes incluidos en el equipo de prueba.

Tabla 1

Componentes incluidos en el equipo de prueba

Color de la tapa	Componente	Símbolo	Número de catálogo individual	Descripción	Cantidad
Café	Mezcla Maestra Logix Smart SARS-CoV-2	MM	COVID-MM-002	Mezcla patentada de SARS-CoV-2 CoPrimer™ y reactivos PCR	1x500 µL (100 reacciones) o 1x1250 µL (250 reacciones) o 1x25000 µL (5.000 reacciones)
Rojo	Control positivo Logix Smart SARS-CoV-2	PC	COVID-PC-002	Mezcla patentada de plantillas sintéticas de SARS-CoV-2	1x500 µL (100 reacciones) o 1x1250 µL (250 reacciones) o 1x25000 µL (5.000 reacciones)
Transparente	Agua libre de nucleasa	NTC	GEN-NF-001	Agua libre de actividad de DNasa/RNasa	1x500 µL (100 reacciones) o 1x1250 µL (250 reacciones) o 1x25000 µL (5.000 reacciones)

3 ALMACENAMIENTO Y MANEJO DE REACTIVOS

- El **kit Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** se envía en hielo seco. Los componentes del kit deben llegar congelados. Si uno o más de los componentes no están congelados al recibirlos o sufren daños durante el envío, póngase en contacto con su distribuidor para recibir asistencia.
- Todos los componentes deben almacenarse inmediatamente a -20° C o menos para evitar la degradación de los reactivos.
- Hay que trabajar siempre con cada componente **Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** en hielo. Haga alícuotas, si es necesario, para evitar múltiples ciclos de congelación/descongelación.
- Si trabaja en un área propensa a los cortes eléctricos se recomienda tener un generador de reserva para el congelador, así como un registro de datos de temperatura para garantizar que el **kit de prueba Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** permanezca congelado a -20° C.
- Actualmente se están recopilando datos de estabilidad del producto y los resultados se publicarán, y se actualizarán las nuevas instrucciones de uso para reflejar las condiciones de estabilidad

4 MATERIALES NECESARIOS QUE NO SE INCLUYEN CON LA PRUEBA

Materiales necesarios pero que no se incluye en la prueba incluya en Tabla 2 y Tabla 3.

Tabla 2

Sistemas de extracción y automatización validados con la prueba

Reactivo de extracción		Plataforma de automatización (Si es aplicable)	Fabricante	Volumen de entrada de la muestra/volumen de elusión de la muestra
Nombre	Número de categoría			
Mini kit de ARN viral QIAamp (Qiagen)	52904 (50 extracciones) 52906 (250 extracciones)	N/A	Qiagen	200 µL / 60 µL
Kit de purificación de ARN viral Sbeadex (Biosearch Technologies)	NAP-40-026-04 (5000 extracciones)	Robot de extracción de ADN de alto rendimiento oKtopure (KBS-0009-001)	LGC Biosearch	200 µL / 60 µL
Kit de ADN/ARN viral (CW Bio)	CW3123S, CW3123M, CWY070	N/A	CoWin Biosciences (CWBio)	200 µL / 60 µL
Kit de ADN/ARN viral HighPrep (MagBio)	HPV-DR96	N/A	MagBio	200 µL / 60 µL

Tabla 3

Termocicladores validados pero no incluidos con la prueba

Máquina termocicladora	Número de catálogo	Fabricante
Caja de CoDx	MIC-4	Co-Diagnostics, Inc.
Ciclador de Mic Qpcr	MIC-4	BMS, Bio Molecular Systems
Sistema de PCR en tiempo real QuantStudio™ 5	A34322	Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific)
Sistema de detección de PCR en tiempo real CFX 96 Touch	1855195	Bio-Rad


4.1 Consumibles necesarios, pero no incluidos:

- Guantes y batas de laboratorio desechables sin polvo
- Puntas de pipeta desechables con filtros
- 10% de lejía u otra solución de limpieza apropiada que degrade los ácidos nucleicos.
- Placas PCR o tubos de tiras para el termociclador utilizado.

4.2 Equipo necesario, pero no incluido:

- Varias micropipetas que puedan pipetear volúmenes de 5 µL a 1000 µL
- Un bloque frío o hielo
- Vórtice y centrifugadora
- Armario de bioseguridad clase II, idealmente en una unidad de contención de BSL-2, para la extracción
- Estación de trabajo de PCR, para la mezcla maestra y la configuración

5 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES



¡CUIDADO!

Antes de realizar cualquier prueba o realizar cualquier muestra de un paciente, verifique que todos los instrumentos se hayan instalado, calibrado y recibido un mantenimiento adecuado. No utilice instrumentos cuya calibración no esté actualizada.

Al igual que en cualquier experimento de diagnóstico o de laboratorio, las buenas prácticas de laboratorio para la biología molecular son esenciales para la realización adecuada de la qPCR o de cualquier experimento de laboratorio. Debe prestarse atención a los procedimientos particulares de los procedimientos de diagnóstico molecular. Debido a la alta sensibilidad del **Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** y a la tecnología de la qPCR, se debe tener cuidado al manipular las muestras y materiales mientras se realiza el ensayo para mantener los reactivos y las mezclas de amplificación libres de contaminación. Los usuarios deben prestar atención a:

- Usar puntas de pipeta estériles con filtros.
- Tomar las precauciones habituales al manipular las muestras de cualquier paciente, ya que pueden contener agentes infecciosos.
- Almacenar y extraer los materiales positivos (muestras, controles positivos y amplicones) por separado de otros reactivos.
- Utilizar siempre agua libre de nucleasas, suministrada con este kit.
- Consultar las Hojas de Datos de Seguridad (SDS) apropiadas para la seguridad. La SDS para el **kit de prueba Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** se proporciona con el envío. Si no se proporciona con el envío, la SDS se puede obtener del sitio web de Co-Diagnostics en el enlace: <http://co-dx.com/products/diagnostic-solutions/>
- Para evitar la contaminación, es necesario seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio para la Biología Molecular, lo que exige un flujo de trabajo unidireccional y la separación de los materiales negativos y positivos.
- Por favor, utilice siempre la versión más reciente de este documento, ya que se añadirá más información con los próximos estudios. Puede descargarlo gratuitamente en <http://co-dx.com/resources/instructions-for-use/>

6 TOMA, MANIPULACIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

La selección, toma, almacenamiento y manipulación de las muestras juegan un papel esencial en la realización de los ensayos de ácidos nucleicos. Si el laboratorio no dispone de procedimientos internos para la selección, la recogida, el almacenamiento y la manipulación de la muestra del paciente, en esta sección se ofrecen algunos lineamientos básicos en caso de ser necesario; sin embargo, los laboratorios deben respetar la validación y los procedimientos internos para la selección, la recolección, el transporte y el almacenamiento de la muestra, así como cualquier otro procedimiento de manipulación.

Para obtener más información, visite los sitios web de los CDC y de la OMS en las siguientes direcciones:

- CDC - <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/index.html>
- OMS - <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>

6.1 Fluidos del tracto respiratorio inferior

- 6.1.1 Lavado broncoalveolar o aspirado traqueal: recopilar de 2 a 3 ml en un recipiente de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapón de rosca, o en un recipiente seco estéril. Refrigerar la muestra a 2-8° C y enviarla de un día para otro al laboratorio de pruebas en una bolsa de hielo.
- 6.1.2 Esputo: pedir al paciente que se enjuague la boca con agua y luego expulse esputo de tos profunda directamente en un vaso de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapón de rosca o en un recipiente seco estéril. Refrigerar la muestra a 2-8° C y enviarla de un día para otro al laboratorio de pruebas en una bolsa de hielo.

6.2 Fluidos del tracto respiratorio superior

- 6.2.1 Frotis nasofaríngeo y orofaríngeo (NP/OP): use únicamente bastoncillos de fibra sintética con varillas de plástico. No use bastoncillos de alginato de calcio o bastoncillos con varillas de madera, ya que pueden contener sustancias que inactivan algunos virus e impiden las pruebas de PCR. Coloque los bastoncillos inmediatamente al interior de tubos estériles que contengan medios para el transporte del virus. Las muestras de NP y OP deben guardarse en tubos separados. Refrigere las muestras a 2-8° C y envíelas de un día para otro al laboratorio de pruebas en una bolsa de hielo.

Nota sobre el frotis nasofaríngeo: Inserte un bastoncillo en la fosa nasal en paralelo al paladar. Mantenga el bastoncillo en posición durante unos segundos para que absorba las secreciones / Frote ambas zonas nasofaríngeas con el mismo bastoncillo.

- 6.2.2 Frotis orofaríngeo (por ejemplo, frotis de garganta): frotar la parte posterior de la faringe, sin tocar la lengua.
- 6.2.3 Lavado nasofaríngeo/aspirado o aspirado nasal: recolectar 2-3 mL en una taza de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapón de rosca o en un recipiente seco estéril. Refrigerar la muestra a 2-8° C y enviarla de un día para otro al laboratorio de pruebas en una bolsa de hielo. O recoger la muestra en un frasco con un medio para transportar el virus que no necesite refrigeración o transporte en cadena de frío, puede ser necesario la validación del laboratorio.

6.3 Saliva

6.3.1 Recoger 2-3 ml en un recipiente estéril, a prueba de fugas y con tapa de rosca, o recoger saliva hasta la línea de llenado para los kits de recolección de saliva con tapa de rosca. Refrigerar la muestra a 2-8° C y enviarla de un día para otro al laboratorio de pruebas en una bolsa de hielo. Para los kits de recolección de saliva, siga las instrucciones del fabricante sobre las condiciones de almacenamiento y envío.

6.4 Manejo de muestras

Los trabajadores de laboratorio deben usar el equipo de protección individual (EPI) adecuado, que incluye guantes desechables, bata de laboratorio y protección ocular al manipular especímenes potencialmente infecciosos.

Los especímenes clínicos de pacientes que se sospeche o se confirme que están infectados con COVID-19 deben manipularse en una cabina de bioseguridad certificada de clase II en una unidad de contención de BSL-2. Para más detalles, consulte el documento *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* (CDC, 2009) o el *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio* de la OMS (WHO, 2004).

Para instrucciones específicas sobre el manejo de especímenes clínicos de la enfermedad por coronavirus 2019, consulte también la página web de los CDC para las *Normas provisionales de bioseguridad en el laboratorio para el manejo y procesamiento de especímenes asociados con la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19)* (CDC, 2020).

6.5 Almacenamiento de muestras

Se recomienda que todos los tipos de especímenes se conserven a -20° C hasta 7 días. Para el almacenamiento de más de 7 días, los especímenes se deben congelar a -70° C. Debe evitarse congelar y descongelar las muestras varias veces. Si una muestra se guarda para volver a analizarla, se debe dividir en alícuotas en diferentes tubos para evitar los ciclos de congelación y descongelación. Se deberá controlar y registrar regularmente la temperatura en las zonas de almacenamiento para identificar posibles fluctuaciones. Los refrigeradores/congeladores domésticos con fluctuaciones considerables de temperatura no son adecuados para el almacenamiento de muestras congeladas (CDC, 2020).

6.6 Envío de muestras

Las muestras de las que se sepa o se sospeche que contienen SARS-CoV-2 y que deban enviarse por vía aérea deben enviarse en hielo seco en la categoría de sustancias biológicas B, UN3373. Se deben seguir los reglamentos internacionales establecidos en la Guía de la OMS sobre el *Reglamento para el Transporte de*

Sustancias Infecciosas 2015-2016 (CDC, 2020). En caso de que se necesite un transporte terrestre, la muestra debe enviarse congelada de un día para otro con suficiente hielo para que se mantenga congelada durante todo el trayecto. Después de la recolección de la muestra y su traslado al laboratorio clínico, la muestra se registrará en el sistema del laboratorio.

7 PROCEDIMIENTO

La Organización Mundial de la Salud recomienda que se registre el nombre completo, la fecha de nacimiento, la información de contacto y la hora y fecha de la toma de la muestra del paciente. Además, también se podría registrar la siguiente información:

- Síntomas, fecha de inicio, duración de los síntomas, contacto con casos conocidos de COVID-19 (por ejemplo, un miembro de la familia).
- Historial completo de viajes (fechas, lugar, duración de la visita, etc.).

7.1 Preparación de muestras

La calidad del ARN de la extracción de la muestra es esencial para el rendimiento del **kit Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)**. El protocolo de extracción debe hacerse siguiendo las instrucciones del fabricante.

7.1.1 Extracción de ARN con el mini kit de ARN viral QIAamp®, cat. no. 52904/52906, Qiagen (manual o automatizada con el sistema automatizado QIAcube)

La extracción puede hacerse siguiendo las instrucciones del fabricante utilizando 140 µL de la muestra, y una elución utilizando 60 µL de tampón AVE. Para aumentar la sensibilidad, cargue hasta 200 µL de la muestra del paciente, y aumente el volumen de AVL de tampón de 560 µL a 800 µL. Para asegurar la eliminación del tampón de lavado residual de la muestra antes de la elución, es necesario un paso de centrifugación adicional (consulte el procedimiento de extracción) con un nuevo tubo de recolección.

Debido a la naturaleza mucoide y mucopurulenta, y por tanto viscosa, de la muestra de esputo, se recomienda un procesamiento previo de la muestra antes de su extracción. Hay un protocolo proporcionado por el CDC y evaluado para COVID-19 para el procesamiento de las muestras de esputo disponible en el siguiente enlace: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/processing-sputum-specimens.pdf> (CDC, 2020). Es importante señalar que este procesamiento debe hacerse únicamente en conjunto con el Mini Kit de ARN Viral QIAamp.

Incubar la muestra, mezclando ocasionalmente, a temperatura ambiente hasta que la muestra se licúe, lo que puede llevar hasta 30 minutos. Usar la muestra licuada para la extracción de ácido nucleico posterior, siguiendo las indicaciones del fabricante del sistema de extracción. Conservar cualquier muestra líquida residual a -70° C.

- 7.1.2 Extracción de ARN con el kit de purificación de ARN viral sbeadex, cat. no. NAP-40-026-04, LGC Biosearch usando el oKtopure™ High Throughput DNA Extraction Robot, cat no. KBS-0009-001, LGC Biosearch
- 7.1.3 Preparación de la muestra de esputo o saliva
- Se tomaron muestras de esputo directamente con un tubo cónico de 50mL, luego se diluyeron 1:8 con un 10% de tampón TE y se mezclaron en vórtex.
 - Se recopilieron muestras de saliva de 2 ml con el dispositivo de extracción de ADN en solución de espectro. Luego se diluyeron con 1.5mL de medio de transporte CV3 Spectrum Chemistry, y luego se diluyeron con un 10% de tampón de TE y se pusieron en vórtex para una dilución final de 1:3.
- 7.1.4 Preparación de la mezcla de microesferas y uniones
- Cada placa necesita una combinación de 46,1 ml de tampón de unión SB y 2,9 ml de partículas sbeadex para una sola operación oKtopure.

Protocolo para una única placa de 96 cavidades

- 7.1.4.1 En una placa de muestra nueva de 96 cavidades oKtopure, se añadieron 200 µL de muestra en cada cavidad. Si quedaron agujeros vacíos en la placa que no se utilizaron para la muestra, se añade 200 µl de agua libre de nucleasas (NF) en los agujeros.
- 7.1.4.2 Luego de llenar todos los orificios con agua de muestra o NF, la placa de 96 orificios se introdujo correctamente en el oKtopure.
- 7.1.4.2.1 Hacemos referencia al software oKtopure para la correcta colocación/ubicación de los depósitos y las placas de 96 cavidades para cada uno de ellos en los siguientes pasos.
- 7.1.4.3 30 ml de tampón de lisis se mide en un contenedor limpio, y luego se coloca cuidadosamente en el oKtopure.
- 7.1.4.4 200 µL de tampón de lisis se agregó a cada uno de los agujeros por el oKtopure.

- 7.1.4.4.1 La muestra y el tampón de lisis se mezclaron (mediante pipeteo manual) antes de añadir la mezcla de microesferas.
- 7.1.4.5 Luego de terminar el paso de lisis, se midieron 48mL de mezcla de microesferas y uniones en un recipiente limpio.
- 7.1.4.6 340 µL de mezcla de microesferas y uniones se agregaron a cada agujero por el oKtopure.
- 7.1.4.7 Al terminar, la placa de muestra de 96 cavidades se trasladó a la posición apropiada y se retiró la mezcla de microesferas y uniones del recipiente. Luego se recolectaron los siguientes elementos: 4 depósitos limpios, 1 placa de desechos de lisis (placa de 96 agujeros cuadrados) y una placa de elución de 96 cavidades (placa de destino).
- 7.1.4.8 Tanto la placa de residuos de lisis como la placa de elución de 96 cavidades se colocaron en la posición adecuada.
- 7.1.4.9 Se añadieron los siguientes volúmenes de tampón a cada depósito
- 7.1.4.9.1 BN1 (B1)- 43,2mL, TN1 (B2)- 34,6mL, TN2 (B3)- 53,3mL, Tampón de elución- 7,2mL.
- 7.1.4.10 Se verificó el archivo de prueba de la plantilla (200 uL sbeadex) y se inició la extracción.
- 7.1.4.11 El oKtopure añade los siguientes volúmenes de tampón en cada cavidad:
- 7.1.4.11.1 BN1- 300 µL, TN1- 240 µL, TN2- 370 µL, tampon de elución - 60 µL.
- 7.1.4.11.2 Entre la adición de los tampones, el oKtopure combinó la mezcla de microesferas y tampones para restablecer la suspensión de las microesferas.
- 7.1.4.12 Al terminar, se conservaron las muestras en hielo o se utilizaron inmediatamente para realizar la PCR. El material adicional extraído se almacenó a -80° C.
- 7.1.5 Extracción manual de ARN usando el kit de ADN/ARN viral, cat no. CW3123S/ CW3123M/ CWY070, CWBio
- Se deben seguir las instrucciones del fabricante con una muestra de 200 µL, y un volumen de elución de 60 µL.

7.1.6 Extracción manual de ARN usando el kit de ADN/ARN viral HighPrep, cat no. HPV-DR96, MagBio

Se deben seguir las instrucciones del fabricante con una muestra de 200 µL, y un volumen de elución de 60 µL.



Los tampones 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 potente inhibidor de la PCR en tiempo real.

7.2 Configuración del reactivo Logix Smart SARS-CoV-2

- Al preparar los reactivos, hay que limpiar todas las superficies de trabajo con una solución fresca de lejía al 10%, seguida de alcohol de grado molecular u otro método equivalente de limpieza que desinfecte y degrade los ácidos nucleicos.
- Todos los tubos de muestra de mezcla maestra **Logix Smart SARS-CoV-2**, Control Positivo (PC), agua libre de nucleasa (utilizada como control sin plantilla o NTC), y los tubos de muestra se deben agitar en vórtex durante 3 segundos y girar brevemente antes de usarlos para garantizar que los reactivos estén bien mezclados y para eliminar cualquier condensación o residuo de las tapas.
- Descongelar todos los reactivos y muestras en hielo, o en un bloque frío, antes de comenzar la preparación

7.3 Preparación de la reacción

- 7.3.1 Cada preparación de la reacción debe incluir suficientes agujeros de reacción para la cantidad de muestras de pacientes y al menos un control positivo y un NTC (**# muestras de pacientes + 2 = total de agujeros de reacción necesarios**). Ejemplo: 5 muestras de paciente para probar + 1 orificio de PC + 1 orificio de NTC = 7 orificios de reacción total.
- 7.3.2 De ser posible, el pipeteo debe hacerse en hielo. Se recomienda pipetear la PC y la elución de la muestra en áreas separadas, o en momentos distintos, de la mezcla maestra y el NTC. Cambiar las puntas de la pipeta entre la elución de la muestra del paciente y cambiar las puntas de la pipeta después de pipetear cada componente. Si es posible, pipetear el PC de último, para evitar casos de contaminación.

- 7.3.3 Pipetear 5 µl de **mezcla maestra** en cada orificio que se esté utilizando en una placa o tubo de reacción óptica apropiado (ejemplo: el instrumento de PCR en tiempo real CoDx Box utiliza tubos de reacción de 48 orificios).
- 7.3.4 Pipetear 5 µl de la muestra del paciente (elusión de la extracción de ácido nucleico) o 5 µl de un control (**NTC y PC**) al orificio o los orificios correspondientes. En cada ciclo debe incluirse al menos un control positivo y uno de NTC.
- 7.3.5 Sellar la placa de reacción con una película adhesiva óptica o los tubos de reacción con las tapas correspondientes.
- 7.3.6 Colocar la placa o los tubos en el instrumento de PCR en tiempo real en la orientación correcta e iniciar la prueba

7.4 Preparación del instrumento qPCR para la caja CoDx

- 7.4.1 Comuníquese con el Laboratorio 801-438-1036 ext. 03 o en www.co-dx.com/contact/ para descargar el archivo de plantilla para su uso con la caja de CoDx. El archivo de plantilla viene preprogramado con la configuración del instrumento de PCR que se describe en la siguiente sección.

7.5 Preparación del instrumento qPCR

- 7.5.1 Definir los ajustes que muestran en Tabla 4.

Tabla 4

Definir los ajustes

Artículo	Ajustes
Volumen de la reacción	10 µL
Tasa de incremento	Por defecto
Referencia pasiva	Ninguna

7.5.2 Programar el instrumento de PCR con las condiciones de ciclo que se indican en Tabla 5.

Tabla 5

Programar el instrumento de PCR

Fase	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Transcripción inversa	1	45°C	15 minutos
Desnaturalización inicial	1	95°C	2 minutos
Amplificación	45	95°C	3 segundos
		55°C	32 segundos

7.5.3 Definir los detectores de fluorescencia (tintes) se indicant en Tabla 6.

Tabla 6

Definir los detectores de fluorescencia (tintes)

Objetivo	Nombre del detector	Comunicador	Supresor
SARS-CoV-2 (gen <i>RdRp</i>)	Gen SARS-CoV-2 <i>RdRp</i>	FAM™	BHQ® - 1
SARS-Co-2 (gen <i>E</i>)	Gen SARS-CoV-2 <i>E</i>	CAL Flour® Naranja 560	BHQ® - 1
ADN específico de la RNaseP humana (IPC)	RNaseP	CAL Flour® Rojo 610	BHQ® - 2

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

8 ANÁLISIS DE LOS DATOS

El desempeño de esta prueba se estableció basándose en un número limitado de sujetos clínicos. El desempeño clínico no se ha establecido en todas las variantes circulantes, pero se prevé que será similar al desempeño en las variantes prevalentes en el momento y lugar de la evaluación clínica. El desempeño al momento de la prueba puede variar

dependiendo de las variantes circulantes, incluyendo nuevas cepas emergentes de SARS-CoV-2 y sus prevalencias, las cuales cambian con el tiempo.

Los estudios de verificación y validación realizados para **Logix Smart™ SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** (Número de catálogo COVID-K-002) se llevaron a cabo siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio para ensayos de Biología Molecular (Viana & Wallis, 2011). Si no se cumplen estas condiciones, el rendimiento mostrará una mayor variabilidad debido a los errores del usuario durante la experimentación.

8.1 Configuración de análisis

Los parámetros de análisis en la caja de CoDx o en el ciclador de Mic qPCR deben ajustarse a lo siguiente, pero después de cada prueba, se debe verificar que los ajustes del canal verde (monitoreo del gen RdRp del SARS-CoV-2), el canal amarillo (monitoreo del gen E del SARS-CoV-2) y el canal naranja (monitoreo de la RNaseP (IPC)) correspondan a lo siguiente:

- Marcar la casilla de "Umbral de ajuste automático"
- Establecer el "Método" como Dinámico
- Ajustar el "Nivel de umbral" a 0.100.
- Ajustar el "Inicio del Umbral" a 1.00
- Ajustar "Ignorar Ciclos Antes" a 5.
- Ajustar "Exclusión" a Extensa
- Establecer el "Nivel de corte de fluorescencia" en 5.0%
- Establecer la "Escala inicial del eje Y" como lineal.
- Marcar la casilla "Generar análisis automáticamente"

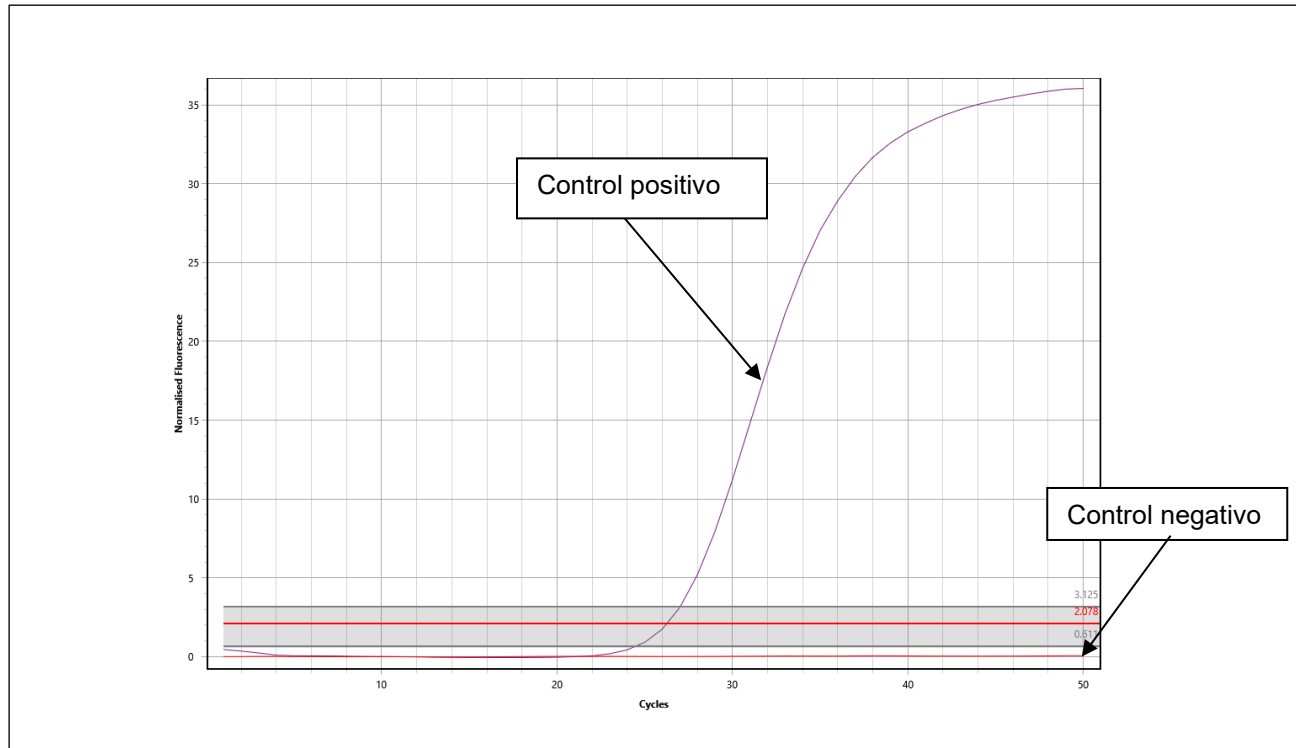
Para otros termocicladores, siga las instrucciones del fabricante para establecer un umbral apropiado.

8.2 Controles positivos

Resaltar bien la reacción de control positivo. Cada control positivo debe mostrar una curva de amplificación para el marcador RdRp del SARS-CoV-2 en el canal FAM, el *marcador del gen E* del SARS-CoV-2 en el canal CF560, y la amplificación del control positivo interno para RNaseP (IPC) en el canal CF610. La curva de amplificación positiva se parece a la curva púrpura de la Figura 1 y debería tener un valor Cq inferior a 40 ciclos.

Figura 1

Señales de Control Positivo (PC) y Control Sin Plantilla (NTC) para Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)



8.3 Control negativo

A continuación, resaltar el control negativo. Los resultados del control negativo no deben indicar ninguna amplificación, específicamente con un valor Cq inferior a 40. En la Figura 1 se puede ver un ejemplo de ausencia de amplificación, como la línea roja, que está por debajo del área de umbral. El área de umbral es la banda gris con la línea roja.

8.4 Validez de las pruebas de diagnóstico

Verificar que tanto el control positivo como el de plantilla hayan pasado.

8.4.1 Deben cumplirse las condiciones en Tabla 7.

Tabla 7

Condiciones de control

Tipo de control	Nombre del control	Objetivo del control	Canal FAM SARS-CoV-2 RdRp	Canal CF560 gen E SARS-CoV-2	Control positivo interno (RNaseP) Canal CF610
Control positivo de SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 RdRp (FAM™)	Verifica el rendimiento de la mezcla maestra	+	+	+
	SARS-CoV-2 E (CF@560)				
	RNaseP (IPC) (CF@610)				
Control sin plantilla	Mezcla maestra + Agua	Verifica que los reactivos no estén contaminados	-	-	-

- Si se pasan los controles, hay que interpretar los resultados de la muestra.

8.4.2 Prueba de diagnóstico inválida

Si alguno de los controles falla, se anula la prueba. Documente los resultados y comience el diagnóstico de problemas.

Si el Control Positivo Interno (RNaseP) falla se debe iniciar una investigación para eliminar posibles salpicaduras, errores de pipeteo o cualquier otro error de laboratorio.

8.5 Interpretación de los resultados

Después de pasar los controles, las muestras desconocidas se pueden interpretar en base a tres posibles resultados:

- Positivo
- Negativo
- Inválido

Un resultado **positivo** mostrará una curva de amplificación o un valor de umbral de ciclo para el SARS-CoV-2 *RdRp/E* en o por debajo de 40 ciclos. Las curvas de amplificación superiores a 40 ciclos para el SARS-CoV-2 están en la zona de incertidumbre. La presencia de una curva, con un Cq en o por debajo de 40 ciclos, para una muestra para el SARS-CoV-2 *RdRp/E*, indica un resultado positivo. La amplificación del RNaseP (IPC) muestra que la extracción se realizó correctamente.

Un resultado **negativo** no mostrará ninguna amplificación para el SARS-CoV-2 *RdRp/E*; ocasionalmente puede producirse una amplificación superior a 40 ciclos en los canales del SARS-CoV-2 *RdRp/E* o RNaseP. Toda curva de amplificación superior a 40 ciclos se encuentra en la zona de incertidumbre y posiblemente por debajo del límite de detección. Debe considerarse la posibilidad de realizar una nueva prueba de la misma muestra o una prueba de otra muestra del paciente en el mismo día o en los días siguientes. La ausencia de una curva para el SARS-CoV-2 *RdRp/E* indica un resultado negativo SOLAMENTE cuando el marcador RNaseP (IPC) es positivo.

Un resultado **inválido** se aplica a situaciones en las que cualquiera de los controles falla. Consulte la sección de resolución de problemas. La interpretación de los resultados con valores Ct se puede traducir a la Tabla 8.

Tabla 8

Interpretación de los resultados de la detección del SARS-COV-2 con Logix SmartSARS-CoV-2

	Resultado de la muestra			Control positivo Logix Smart™ SARS-CoV-2	Control sin plantilla (NTC) (mezcla maestra + agua)	Interpretación de los resultados	
	SARS-CoV-2 RdRp (FAM™)	Gen E del SARS-CoV-2 (CF®560)	RNaseP (IPC) (CF®610)				
Lectura de instrumentos	+	+	+	+	-	SARS-CoV-2 RNA +	
	-	+	+	+	-	SARS-CoV-2 RNA +	
	+	-	+	+	-	SARS-CoV-2 RNA +	
	-	-	+	+	-	SARS-CoV-2 RNA -	
	Cualquier resultado (+/-)			-	+	-	INVÁLIDO: Ver diagnóstico y resolución de problemas
				+	-	-	
+				+	+		

La amplificación antes de 40 ciclos se considera una lectura positiva (+). La amplificación después de 40 ciclos se considera una lectura negativa (-). Siempre que sea posible, compruebe la historia clínica y/o los síntomas para determinar el resultado antes de iniciar el tratamiento.

9 DIAGNÓSTICO Y RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

En Co-Diagnostics Inc. agradecemos los comentarios de nuestros clientes y queremos que nos informen de cualquier problema con el kit de prueba Logix Smart™ SARS-CoV-2 (genes RdRp/E), incluso si los pasos recomendados para la solución de problemas logran resolver el problema. Si desea comunicarnos sus observaciones, por favor, utilice el formulario de comentarios de los clientes en la siguiente dirección co-dx.com/contact/feedback/

9.1 Estabilidad

Actualmente se están llevando a cabo estudios sobre la vida útil acelerada en tiempo real y la estabilidad en uso. En este momento, la fecha de caducidad de este producto se ha establecido en 12 meses.

Se debe consultar siempre la versión más reciente de este documento en caso de actualizaciones, ya que se añadirá más información de estabilidad al finalizar los estudios.

9.2 Errores de usuario

El ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica que utiliza el ciclo de temperatura y una polimerasa de ADN para amplificar una o unas pocas copias de un segmento de ADN o ARN. Buenas prácticas de laboratorio para el diagnóstico de la biología molecular (Viana & Wallis, 2011) son necesarios para usar este producto. Este producto no está destinado a su uso por parte de personal no capacitado.

El usuario debe contar con cierta experiencia en biología molecular y estar al corriente de la técnica de pipeteo adecuada para evitar errores, como salpicaduras, contaminación cruzada y errores en la distribución del volumen. Las puntas de las pipetas deben cambiarse después de cada pipeteo. Hay que cambiar los guantes con frecuencia. El equipo debe estar calibrado y actualizado para las pipetas y los termocicladores, cuando corresponda.

Un entrenamiento en línea de 90 minutos de buenas prácticas de laboratorio para pruebas de genética molecular (CDC, 2017) está disponible en la página web del CDC en el siguiente enlace <https://www.cdc.gov/labtraining/training-courses/good-lab-practices-molecular-genetics-testing.html>

9.3 Resultados inválidos

9.3.1 No se amplifica el control positivo de Logix Smart SARS-CoV-2

9.3.2 Si no hay amplificación del PC, esto podría ser el resultado de uno o varios factores, como:

- Errores de pipeteo (control de pipeteo en el orificio equivocado, omisión de un orificio, pipeteo de una cantidad inadecuada de reactivo),
- Colocación incorrecta de placas o tubos en el instrumento de PCR en tiempo real,
- La **mezcla maestra o el control positivo de Logix Smart SARS-CoV-2** se ha degradado (debido a que los reactivos han estado a temperaturas superiores a los -20° C durante un largo periodo de tiempo),
- Uso de reactivos caducados,
- o el uso de reactivos incorrectos.
- Si no existen más indicios, la prueba debe considerarse inválida y el usuario debe volver a hacerla por medio de una reamplificación. Si el control positivo vuelve a fallar, se debe realizar una investigación para identificar las posibles causas del error y, según los resultados de la investigación y los riesgos identificados en el proceso, tal vez sea necesario volver a tomar las muestras del paciente. Si el fallo del control positivo ocurre una tercera vez después de la re-extracción y re-amplificación, se debe abrir un nuevo **control positivo o mezcla maestra de Logix Smart SARS-CoV-2**, y volver a probar. Si sigue fallando, por favor contacte al soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 02 o contáctenos por medio de www.co-dx.com/contact/.

9.3.3 **La RNaseP (IPC)** no se amplifica en las muestras de los pacientes

9.3.4 Si no hay amplificación del canal RNaseP, esto podría ser el resultado de uno o varios factores, como:

- no hay suficiente material nuclear en la muestra del paciente,
- hay inhibidores de la PCR como el etanol y la heparina,
- la extracción se realizó de forma incorrecta,

- o el kit de extracción utilizado no es compatible o tiene un paso que elimina el ADN RNaseP.

Nota: La amplificación positiva en el canal del SARS-CoV-2 indica un resultado positivo, a pesar de la falta de amplificación simultánea en el canal IPC. La amplificación de la CIP depende de la presencia de ADN genómico humano (ADNg) en la muestra de extracción, cuya cantidad se rige por el tipo de muestra del paciente y el procedimiento de extracción utilizado. Es posible que las muestras obtenidas de cultivos o de puntos estériles o puros (por ejemplo, LCR, orina, lisados celulares, etc.) no contengan el gen RNaseP humano.

Si el IPC (canal CF610) muestra un resultado negativo mientras que el canal o canales del SARS-CoV-2 RdRp/E (FAM/CF560) muestran un resultado positivo, se debe iniciar una investigación interna.

En la investigación se deben evaluar estos dos posibles escenarios:

- El resultado positivo para el canal o canales del SARS-CoV-2 *RdRp/E* (FAM/CF560) es un positivo verdadero, mientras que el IPC es negativo debido a la falta del gen RNaseP humano en la muestra (ausencia de células humanas en la muestra).
- La amplificación de los canales de SARS-CoV-2 *RdRp/E* (FAM/CF560) es un falso positivo mientras que la IPC (canal CF610) es negativa debido a errores de prueba/humanos potencialmente debidos a errores de confusión durante el proceso de colocación de placas y pipetas, anomalías de refracción en la solución o cualquier otra causa de falsos positivos

Si alguno de los controles falla, puede indicar que la extracción o la toma de muestras ha fallado. En este escenario se debería realizar una nueva toma de muestras, si la IPC sigue siendo negativa con un canal SARS-CoV-2 negativo, el resultado debería registrarse como INVÁLIDO con la solicitud "NUEVA TOMA DE MUESTRAS NECESARIA".

Si la causa del error no se entiende, contacte con el soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 02 o comuníquese con nosotros desde www.co-dx.com/contact/.

9.3.5 Hay amplificación en la plantilla de control

Si hay amplificación de la plantilla de control sin SARS-CoV-2 RdRp/E, esto indica contaminación de uno o más de los reactivos, colocación incorrecta de la placa o el tubo en el instrumento de PCR en tiempo real, o errores de pipeteo.

Se debe interpretar que los resultados son inválidos y se debe realizar otra prueba por medio de una reamplificación. Si el NTC vuelve a fallar, entonces se debe realizar una investigación para identificar las posibles causas de error y, dependiendo de los resultados de la investigación y los riesgos que se identifiquen en el proceso, puede que sea necesario volver a tomar las muestras de los pacientes. Si falla el NTC, después de la re-extracción y re-amplificación, es la tercera vez que ocurre, se debe abrir una nueva agua libre de nucleasas y volver a hacer la prueba. Si sigue fallando, se debe interpretar la prueba como inválida. Por favor, comuníquese con el soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 02 o desde: www.co-dx.com/contact/.

10 LIMITACIONES

- Es necesario cumplir estrictamente con las disposiciones de este documento para obtener resultados óptimos. Por favor, recurra siempre a la versión más reciente de este documento. Puede descargarla gratuitamente en co-dx.com/resources/instructions-for-use/
- El uso de este producto se debe limitar a personal entrenado e instruido en técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos de IVD.
- Para realizar correctamente las pruebas, es imprescindible seguir las buenas prácticas de laboratorio. También se recomienda realizar una prueba al recibir los reactivos para comprobar su funcionamiento antes de realizar la prueba en las muestras de los pacientes.
- Para lograr resultados óptimos es necesario aplicar procedimientos adecuados de toma, transporte, almacenamiento y procesamiento de las muestras.
- No utilice los componentes del **kit Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** directamente en la muestra recolectada. Antes de utilizar esta prueba, realice una extracción apropiada de ácido nucleico.
- La presencia de inhibidores de PCR puede causar falsos negativos o resultados inválidos.
- Las posibles mutaciones de las regiones de interés de COVID-19, parte del genoma del kit de prueba, pueden no detectar la presencia de los patógenos.
- Como en cualquier prueba de diagnóstico, los resultados del **kit Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** se deben interpretar en función de todos los resultados clínicos y de laboratorio

11 EVALUACIÓN ANALÍTICA

La evaluación analítica del buen funcionamiento se llevó a cabo con muestras artificiales procedentes de un aumento del virus Coronavirus 2 relacionado con el SARS, aislado USA-WA1/2020, irradiado por rayos gamma (BEI Resources, número de catálogo NR-52287) en una matriz clínica negativa compuesta principalmente por muestras de esputo,

lavado broncoalveolar (BAL), líquido nasofaríngeo y frotis nasal procedentes de Discovery Life Sciences o de donaciones.

11.1 Precisión

La precisión se realizó durante 10 días con 2 sesiones diarias. Las muestras se prepararon introduciendo en la saliva material de referencia del Coronavirus Relacionado con el SARS 2, aislado USA-WA1/2020, irradiado por rayos gamma (BEI Resources, número de catálogo NR-52287) y luego se extrajo. Las concentraciones utilizadas se identifican como [Normal] = 300 copias/reacción (copias/ μ L) y [Baja] = 50 copias/reacción (10 copias/ μ L). El promedio de Cq entre días debe ser menor o igual a 2,0 ciclos con una varianza inferior al 5% y un valor p por debajo de 0,05. Los resultados se encontraron dentro de los criterios de aceptación. Consulte Tabla 9 y Tabla 10.

Tabla 9

Valor p en ANOVA para el estudio de precisión de Logix Smart SARS-CoV-2

	Valor p (Días)
15428 (Canal verde)	
COVID [Normal]	7.82E-24
COVID [Bajo]	1.93E-19
26269 (Canal amarillo)	
COVID [Normal]	6.03E-26
COVID [Bajo]	1.57E-14

Tabla 10

Resultados de precisión combinados para

	Cq promedio	SD	Tasa de aciertos	CV%	Tasa de detección de marcadores (%)	Tasa de detección del kit (%)
15428 (canal verde)						
COVID [Normal]	31.71	1.15	172/172	3.63	100%	100%
COVID [Bajo]	34.02	1.25	169/172	3.67	98.25%	100%
26269 (canal amarillo)						
COVID [Normal]	31.30	0.99	172/172	3.17	100%	100%
COVID [Bajo]	33.73	1.06	171/172	3.15	99.42%	100%

11.2 Límite de detección (LoD) - Sensibilidad analítica

El Límite de Detección (LoD) es la concentración más baja de analito que se detecta a una tasa de al menos 95%. El experimento se realizó utilizando el Coronavirus 2 relacionado con el SARS, aislado USA-WA1/2020, irradiado por rayos gamma (BEI Resources, número de catálogo NR-52287) que se introdujo en el esputo o en las

muestras después del paso de lisis del kit de extracción específico para evitar la degradación del ARN antes de la lisis. Para las pruebas de LD se utilizaron los siguientes kits de extracción: Mini Kit de ARN Viral QIAamp (Qiagen, CAT#52906), Kit de ADN/ARN Viral HighPrep (MagBio, CAT#HPV-DR96), y el Kit de ADN/ARN Viral (CW Bio, CAT#CW3126M). Además, el Kit de Purificación de ARN Viral sbeadex se realizó en el oKtopure (Biosearch Technologies, CAT#NAP-40-026-04). El LoD de cada kit se evaluó individualmente. Luego del proceso de extracción, los extractos fueron probados usando el protocolo del kit de prueba Logix Smart SARS-CoV-2. Se confirmó el LoD realizando 20 extracciones replicadas a la concentración de LoD de cada kit. Consulte Tabla 11 y Tabla 12.

Tabla 11

Tasa de detección de la cepa de ARN genómico SARS-CoV-2 (aislado USA-WA1/2020)

Mini kit de ARN viral QIAamp (Qiagen)				Kit de ADN/ARN Viral HighPrep (MagBio)			
Concentración de SARS-CoV-2 en la muestra (copias/μL)	# de muestras	# detección	Tasa de detección (%)	Concentración de SARS-CoV-2 en la muestra (copias/μL)	# de muestras	# detección	Tasa de detección (%)
8	8	8	100%	6	16	16	100%
6	8	8	100%	4	16	16	100%
4	8	8	100%	2	16	16	100%
2.5	16	16	100%	1	32	32	100%
2	8	8	100%	0.8	14	16	88%
1	23	24	96%	0.6	16	16	100%
0.8	16	16	100%	0.5	15	16	94%
0.5	13	16	81%	0.4	12	16	75%
0.2	5	16	31%	0.1	4	16	25%
Kit de ADN/ARN viral (CW Bio)				Kit de purificación de ARN viral Sbeadex (LGC Biosearch Technologies)			
Concentración de SARS-CoV-2 en la muestra (copias/μL)	# de muestras	# detección	Tasa de detección (%)	Concentración de SARS-CoV-2 en la muestra (copias/μL)	# de muestras	# detección	Tasa de detección (%)
8	24	24	100%	8	32	32	100%
6	24	24	100%	6	32	32	100%
4	24	24	100%	4	31	32	97%
3	39	40	98%	3	16	16	100%
2	24	24	100%	2	24	32	75%
1.5	44	48	92%	1.5	16	32	50%
1	19	32	59%	1	14	16	88%
0.8	27	48	56%	0.8	11	16	69%
0.4	19	48	40%	0.4	10	16	63%
0.1	5	48	10%	0.1	1	16	6%

Tras la finalización de esas pruebas, se utilizó la concentración más baja con al menos un 95% de detección para la verificación de las pruebas de LoD. Al no lograrse una tasa de detección del 95%, se incrementó la concentración hasta alcanzar al menos una tasa de detección del 95%.

Tabla12
Confirmación de LoD

Mini kit de ARN viral QIAamp (Qiagen)					
Termociclador	Concentración (copias/μL)	Matriz de muestras	# positivos	Total de muestras	Tasa de detección
CoDx Box	0.8	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
MIC	0.8	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
QuantStudio 5	0.8	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
CFX96	0.8	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
Kit de ADN/ARN Viral HighPrep (MagBio)					
Termociclador	Concentración (copias/μL)	Matriz de muestras	# positivos	Total de muestras	Tasa de detección
CoDx Box	1.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
MIC	1.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
QuantStudio 5	1.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
CFX96	1.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
Kit de ADN/ARN viral (CW Bio)					
Termociclador	Concentración (copias/μL)	Matriz de muestras	# positivos	Total de muestras	Tasa de detección
CoDx Box	2.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
MIC	2.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
QuantStudio 5	2.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
CFX96	2.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
Kit de ARN Viral Sbeadex (Tecnologías de Bioinvestigación)					
Termociclador	Concentración (copias/μL)	Matriz de muestras	# positivos	Total de muestras	Tasa de detección
CoDx Box	6.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
MIC	6.0	Saliva	20	20	100%
		Espuito	20	20	100%
QuantStudio 5	6.0	Saliva	19	20	95%
		Espuito	19	20	95%
CFX96	6.0	Saliva	19	20	95%
		Espuito	19	20	95%

Se confirmó que el límite de detección (LoD) para el kit Logix Smart SARS-CoV-2 con el mini kit viral de ARN QIAamp (cat. n° 52904/ 52906, Qiagen) era de 0,8 copias/μL (800 copias/mL). Para el Kit de ADN/ARN Viral HighPrep (MagBio, CAT#HPV-DR96) se confirmó que el LoD es de 1,0 copias/μL (1.000 copias/mL). Para el Kit de ADN/ARN Viral (CW Bio, CAT#CW3126M) se confirmó que el LoD fue de 2.0 copias/μL (2,000 copias/mL). Para el Kit de Purificación de ARN Viral sbeadex se usó el oKtopure (Biosearch Technologies, CAT#NAP-40-026-04) y se confirmó que el LoD es de 6.0 copias/μL (6,000 copias/mL).

11.3 Inclusividad (sensibilidad analítica):

11.3.1 Inclusividad in silico

Se realizó una alineación con las secuencias de oligonucleótidos CoPrimer del CoPrimer COVID-19 con todas las secuencias de ácidos nucleicos disponibles públicamente para el SARS-CoV-2 en el GenBank, y también con la base de datos GISAID para demostrar la inclusividad prevista de la prueba Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E).

En Co-Diagnostics Inc., hemos estado realizando revisiones consistentes de la alineación de la secuencia para controlar la conservación de la secuencia mediante el análisis de los datos genómicos de la mutación filogénica extraídos por NextStrain de la base de datos GISAID. La primera alineación se realizó el 4 de febrero de 2020, y las posteriores revisiones se realizaron en marzo, abril, mayo y junio, julio, agosto y septiembre. Se muestran resultados parciales y acumulativos. Las secuencias se obtuvieron de

<https://github.com/nextstrain/ncov/blob/master/data/metadata.tsv>

Consulte Tabla 13 para historial de análisis in silico.

Tabla 13

Historial de análisis in silico

Fecha del análisis del CoDx para el marcador RdRp	Análisis de las muestras de SARS-CoV-2 número de secuencias en la submuestra analizada	Secuencias en el pool con 100% de homología	Eventos de mutación de un solo nucleótido: Secuencias con <u>1 discrepancia</u> en el objetivo de CoDx (98% de homología)	Eventos de doble mutación de nucleótidos: Secuencias con más de 2 <u>discrepancias</u> en el objetivo de CoDx (95% de homología)	Múltiples eventos de mutación de nucleótidos: Secuencias con más de 3 <u>discrepancias</u> en el objetivo de CoDx <95% de homología)
27-Ene-20	14	14 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
4-Feb-20	53	53 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
17-Mar-20	571	570 (99.8%)	1 (0.2%)	0 (0%)	0 (0%)
6-Abr-20	3639	3634 (99.86%)	5 (0.14%)	0 (0%)	0 (0%)
4-May-20	4468	4459 (99.80%)	9 (0.2%)	0 (0%)	0 (0%)
3-Jun-20	4558	4537 (99.54%)	21 (0.46%)	0 (0%)	0 (0%)
6-Jul-20	11361	11328 (99.71%)	33 (0.29%)	0 (0%)	0 (0%)
10-Ago-20	22054	22012 (99.81%)	42 (0.19%)	0 (0%)	0 (0%)
9-Sep-20	4417	4394 (99.48%)	23 (0.52%)	0 (0%)	0 (0%)
12-Oct-20	5139	5114 (99.51%)	25 (0.49%)	0 (0%)	0 (0%)

Fecha del análisis del CoDx para el <u>marcador del gen E</u>	Análisis de las muestras de SARS-CoV-2 número de secuencias en la submuestra analizada	Secuencias en el pool con 100% de homología	Eventos de mutación de un solo nucleótido: Secuencias con <u>1 discrepancia</u> en el objetivo de CoDx (98% de homología)	Eventos de doble mutación de nucleótidos: Secuencias con más de 2 <u>discrepancias</u> en el objetivo de CoDx (95% de homología)	Múltiples eventos de mutación de nucleótidos: Secuencias con más de 3 <u>discrepancias</u> en el objetivo de CoDx <95% de homología)
27-Ene-20	14	14 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
4-Feb-20	53	53 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
9-Sep-20	4417	4400 (99.62%)	14 (0.32%)	2 (0.05%)	1 (0.2%)
12-Oct-20	5139	5126 (99.96%)	11 (0.21%)	0 (0%)	2 (0.04%)

Se espera que cada marcador en Logix Smart SARS-CoV-2 detecte cepas con una única discrepancia sin dificultad. Con 2 desajustes, se espera que cada marcador en Logix Smart SARS-CoV-2 detecte con un retraso significativo de Cq. Se espera que los casos de más de 3 discrepancias no sean detectados por ese marcador. Para mantener el 99%+ de sensibilidad esperada para ambos marcadores, el 99%+ de las secuencias muestreadas deberían mantener menos de tres discrepancias en cualquiera de los marcadores. Para mantener una sensibilidad esperada de más del 99% para cualquiera de los marcadores, más del 99% de las secuencias muestreadas deberían mantener <3 discrepancias en ambos marcadores.

Los datos de alineación y los análisis actualizados posteriormente han señalado menos de tres discrepancias tanto para los CoPrimers de avance como de retroceso en el 100% de las secuencias para el marcador RdRp y en el 99,96% de las secuencias para el marcador del gen E en el submuestreo global NextStrain de la base de datos GISAID. Por lo tanto, la predicción de resultados falsos negativos es de ~0,04% solamente para el marcador del gen E y no hay ninguna predicción de resultados de falsos negativos para ambos marcadores conjuntamente según los datos disponibles.

11.3.2 Inclusión de pruebas en húmedo

Se realizaron pruebas de inclusión en húmedo para confirmar que el Logix Smart SARS-CoV-2 puede detectar múltiples cepas/aislados de SARS-CoV-2. Las pruebas se realizaron mediante la adición a la matriz de saliva o esputo extraído negativo en 9x, 3x y 1x LoD, y se realizaron en cuadruplicado. Consulte Tabla 14 para Logix Smart SARS-CoV-2 resultados de las pruebas de inclusión.

Tabla 14

Logix Smart SARS-CoV-2 resultados de las pruebas de inclusión

Cepa de SARS-CoV-2	Objetivo	Promedio Ct ± S.D.	
USA-CA3/2020	RdRp	9x LoD	31.97 ± 0.32
		3x LoD	33.26 ± 0.29
		1x LoD	33.86 ± 0.33
	gen E	9x LoD	31.27 ± 0.11
		3x LoD	33.09 ± 0.35
		1x LoD	33.45 ± 0.27
USA-IL1/2020	RdRp	9x LoD	30.89 ± 0.23
		3x LoD	32.43 ± 0.19
		1x LoD	34.28 ± 0.51
	gen E	9x LoD	30.11 ± 0.17
		3x LoD	31.74 ± 0.36
		1x LoD	33.90 ± 0.52
Italy-INMI1/2020	RdRp	9x LoD	30.27 ± 0.14
		3x LoD	31.76 ± 0.23
		1x LoD	33.61 ± 0.42
	gen E	9x LoD	30.27 ± 0.07
		3x LoD	31.90 ± 0.12
		1x LoD	33.76 ± 0.18
Germany/BavPat1/2020	RdRp	9x LoD	31.47 ± 0.07
		3x LoD	33.45 ± 0.37
		1x LoD	34.80 ± 0.21
	gen E	9x LoD	32.40 ± 0.19
		3x LoD	34.42 ± 0.63
		1x LoD	35.47 ± 0.78
USA-AZ1/2020	RdRp	9x LoD	30.35 ± 0.28
		3x LoD	34.30 ± 0.71
		1x LoD	35.88 ± 1.29
	gen E	9x LoD	30.06 ± 0.12
		3x LoD	34.10 ± 0.72
		1x LoD	34.97 ± 0.18
Hong Kong/VM20001061/2020	RdRp	9x LoD	30.08 ± 0.22
		3x LoD	31.62 ± 0.25
		1x LoD	33.10 ± 0.24
	gen E	9x LoD	29.96 ± 0.16
		3x LoD	31.53 ± 0.43
		1x LoD	33.24 ± 0.04

11.4 Reactividad cruzada (Especificidad analítica) por un análisis *in silico*:

En el análisis *in silico* se realizaron investigaciones de análisis de BLASTn de los CoPrimers del SARS-CoV-2 contra secuencias de nucleótidos de dominio público. Los parámetros de búsqueda de la base de datos fueron los siguientes: 1) Los nucleótidos están compuestos por secuencias GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+RefSeq, pero se excluyen las secuencias EST, STS, GSS, WGS, TSA, secuencias de patentes, así como las secuencias HTGS de fase 0, 1 y 2 y las secuencias de más de 100Mb; 2) La base de datos no es redundante. Se han fusionado secuencias idénticas en una sola entrada, conservando la información de adhesión, IG, título y taxonomía de cada entrada; 3); 4) Los parámetros de búsqueda se ajustan automáticamente para secuencias de entrada cortas y el umbral de espera es de 1000; 5) Las puntuaciones de coincidencia y discrepancia son 1 y -3, respectivamente; 6) La penalización por provocar y amplificar la diferencia en una alineación es 5 y 2, respectivamente. 7) BLASTn se aplicó individualmente para cada organismo solicitado por la FDA EUA, con lineamientos para el análisis *in silico* de microorganismos relevantes. En la Tabla 15 se incluye la lista de microorganismos solicitada por la FDA.

Se espera que el marcador del gen E logre amplificar muchas cepas del coronavirus del murciélago y del coronavirus del SARS humano. No se espera que el marcador del gen E se cruce con ningún otro coronavirus, microflora humana o cualquier otro organismo que se haya establecido en la base de datos del NCBI.

Los CoPrimers tienen un perfil de riesgo de reacción cruzada ligeramente diferente al de los primers tradicionales. Debido a que el Tm bajo de las secuencias de primers y de captura, los CoPrimers son más propensos a discrepancias. Nuestros experimentos internos indican que una sola discrepancia, bien sea adelante o atrás, genera un retraso significativo en la amplificación, y que más discrepancias generan una supresión significativa de la señal. Si se combinan más de tres discrepancias en el avance y en el retroceso, se espera que no se detecte ninguna amplificación.

Los resultados sugieren que **el kit Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** no tiene reacciones cruzadas con ninguno de los organismos que no son objetivo de la prueba en húmedo o en el análisis *in silico*. Las muestras negativas no mostraron ninguna amplificación, por lo tanto, no hubo falsos positivos a causa de reacciones cruzadas. Consulte Tabla 15. Las muestras positivas en presencia de material genético de organismos no objetivo en la mayoría de los casos no redujeron la capacidad del **kit Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** para arrojar resultados positivos.

Tabla 15
Microorganismos incluidos en la evaluación de reacciones cruzadas in silico

Patógenos de alta prioridad de la misma familia genética	Organismos de alta prioridad que posiblemente se encuentren en la zona de circulación	Otros microorganismos de importancia
Coronavirus humano 229E	Adenovirus	Influenza C
Coronavirus humano OC43	Metapneumovirus humano (hMPV)	Parecovirus
Coronavirus humano HKU1	Virus de la parainfluenza 1-4	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Coronavirus humano NL63	Gripe A y B	<i>Legionella non-pneumophila</i>
Coronavirus SARS	Enterovirus	<i>Bacillus anthracis</i> (Ántrax)
Coronavirus MERS	Virus sincitial respiratorio	<i>Moraxella catarrhalis</i>
	Rinovirus	<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> (Fiebre Q)
	<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 en conjunto - para representar la diversa flora microbiana en el tracto respiratorio humano	
	<i>Candida albicans</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
	<i>Staphylococcus salivarius</i>	

11.5 Exclusividad de la prueba en húmedo

Se realizaron pruebas exclusivas en húmedo para confirmar que el **kit Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)** no tiene reacciones cruzadas con organismos no objetivo. La prueba se realizó mediante la adición de esputo negativo, con organismos no objetivo, o el genoma extraído del organismo no objetivo. Los materiales que ya habían sido extraídos recibieron refuerzos después de la extracción. Los organismos no objetivo se inyectaron en una concentración final de 1e4 copias/rxn (1e3 copias/μL (1e6 copias/mL)) y se analizaron por duplicado. Además, para verificar que la presencia de ADN/ARN genómico no objetivo no afecta a la capacidad de detectar el SARS-CoV-2, se incorporaron organismos no objetivo en una concentración final de 1e4 copias/rxn (1e3 copias/μL (1e6

copias/mL)) y el control del ARN del AMPLIRUN® Coronavirus SARS-CoV-2 se incorporó en 3x LoD, y se analizó por triplicado.

Los datos generados a partir de las pruebas de exclusividad de la especificidad se resumen a continuación en la Tabla 16. Según los resultados, la presencia de material genómico del organismo no objetivo no afectó significativamente a la amplificación del objetivo RdRp o del objetivo del gen E ≥ 2 Cq. Además, no hubo amplificación en las reacciones que incluían únicamente el organismo no objetivo, con la excepción del SARS-CoV-1 (2003), que se esperaba que se amplificara sobre la base del análisis *in silico*.

Tabla 16

Prueba de Exclusividad Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)

Muestra	Objetivo	Promedio Ct \pm S.D.
Coronavirus humano OC43	RdRp	34.91 \pm 0.27
	gen E	33.55 \pm 0.20
Coronavirus humano HKU1	RdRp	34.48 \pm 0.05
	gen E	33.76 \pm 0.35
Coronavirus humano NL63	RdRp	35.12 \pm 1.10
	gen E	33.99 \pm 0.54
SARS-coronavirus	RdRp	35.08 \pm 0.46
	gen E	23.22 \pm 0.13
MERS-coronavirus	RdRp	35.12 \pm 0.88
	gen E	34.94 \pm 1.86
Metapneumovirus humano (hMPV)	RdRp	35.06 \pm 0.40
	gen E	34.04 \pm 0.54
Virus de la parainfluenza 3	RdRp	34.88 \pm 0.30
	gen E	33.51 \pm 0.03
Influenza A	RdRp	34.91 \pm 0.23
	gen E	33.38 \pm 0.20
Influenza B	RdRp	34.99 \pm 1.04
	gen E	33.65 \pm 0.45
Enterovirus (e.g. EV68)	RdRp	35.21 \pm 0.19
	gen E	33.20 \pm 0.01
Virus sincitial respiratorio	RdRp	36.20 \pm 1.44
	gen E	33.94 \pm 0.28
Rinovirus	RdRp	35.56 \pm 0.38
	gen E	35.29 \pm 0.38

Muestra	Objetivo	Promedio Ct ± S.D.
Panel viral respiratorio	RdRp	35.21 ± 0.06
	gen E	35.22 ± 0.62
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	RdRp	34.52 ± 0.25
	gen E	33.26 ± 0.79
<i>Haemophilus influenzae</i>	RdRp	35.78 ± 1.54
	gen E	34.08 ± 0.81
<i>Legionella pneumophila</i>	RdRp	35.09 ± 0.73
	gen E	34.24 ± 1.00
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	RdRp	34.98 ± 0.89
	gen E	35.05 ± 0.49
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	RdRp	36.46 ± 0.64
	gen E	35.64 ± 1.29
<i>Streptococcus pyogenes</i>	RdRp	35.57 ± 0.39
	gen E	35.45 ± 0.49
<i>Bordetella pertussis</i>	RdRp	35.32 ± 0.51
	gen E	35.65 ± 0.43
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	RdRp	35.41 ± 0.54
	gen E	35.73 ± 0.58
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	RdRp	35.69 ± 0.41
	gen E	35.65 ± 0.22
<i>Candida albicans</i>	RdRp	35.28 ± 0.86
	gen E	35.46 ± 0.59
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	RdRp	35.12 ± 0.71
	gen E	35.65 ± 0.18
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	RdRp	36.61 ± 1.60
	gen E	35.51 ± 0.95
<i>Streptococcus salivarius</i>	RdRp	36.80 ± 0.89
	gen E	35.03 ± 0.36
Lavado nasal humano en conjunto, <i>para representar la diversa flora microbiana en el tracto respiratorio humano</i>	RdRp	34.52 ± 0.39
	gen E	36.16 ± 0.74

11.6 Exactitud del diagnóstico

Los datos de las pruebas de LoD y los experimentos de precisión fueron combinados y analizados. Se recopilaron un total de 2364 lecturas con concentraciones superiores al límite de detección para los verdaderos negativos (TN), falsos positivos (FP), verdaderos positivos (TP) y falsos negativos (FN). Además, se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, exactitud, valor predictivo positivo (PPV), valor predictivo negativo (NPV) y Coeficiente de Correlación de Michaels (MCC). Consulte Tabla 17.

Tabla 17

Exactitud diagnóstica para el Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)

	SARS-CoV-2
Verdaderos negativos (TN)	906
Falsos positivos (FP)	10
Verdaderos positivos (TP)	1440
Falsos negativos (FN)	8
Sensibilidad	99.448%
Especificidad	98.908%
Precisión	0.992
PPV	0.993
NPV	0.991
MCC	0.984

11.7 Resumen de desempeño

Consulte Tabla 18 para la Resumen de rendimiento para Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E).

Tabla 18

Resumen de rendimiento para Logix Smart SARS-CoV-2 (genes RdRp/E)

Aplicación	Prueba PCR cualitativa de multiplexación para la detección del SARS-CoV-2	
Límite de detección (copias/mL)	Mini kit de ARN viral QIAamp (Qiagen)	800 copias/mL
	Kit de ADN/ARN Viral HighPrep (MagBio)	1.000 copias/mL
	Kit de ADN/ARN viral (CW Bio)	2.000 copias/mL
	Kit de Purificación de ARN Viral sbeadex automatizado con el sistema oKtopure High Throughput (ambos LGC Biosearch Technologies)	6.000 copias/mL
Sensibilidad*	99.448%	
Especificidad*	98.908%	
Tipo de muestra	Muestras de las vías respiratorias inferiores (por ejemplo, lavado broncoalveolar, esputo, aspirado traqueal), muestras de las vías respiratorias superiores (por ejemplo, frotis nasofaríngeos y orofaríngeos) y saliva	
Tiempo de detección	Aproximadamente 90 minutos, dependiendo del instrumento utilizado	
Compatibilidad del termociclador	<ul style="list-style-type: none"> • CoDx Box (Co-Diagnostics, Inc.) • Mic cyclor (BMS, Biomolecular Systems) • QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific) • CFX96 (Bio-Rad) <p>La prueba debería funcionar con la mayoría de los sistemas de qPCR con las siguientes compatibilidades de canal:</p> <p>FAM CF560 (VIC) CF610 (ROX)</p>	
Compatibilidad del kit de extracción	QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen, CAT#52906) HighPrep Viral DNA/RNA (MagBio Genomics, CAT#HPV-DR96) Viral DNA/RNA Kit (CW Bio, CAT#CW3126M) sbeadex Viral RNA Purification Kit (LGC Biosearch Technologies, CAT#NAP-40-026-04).	

* Los resultados obtenidos del estudio observacional de 2364 series de muestras artificiales.

12 FABRICANTE Y REPRESENTANTE AUTORIZADO

**Fabricante:**

Co-Diagnostics, Inc
2401 S Foothill Dr. Ste D
Salt Lake City, UT 84109
Teléfono: +1 (801) 438-1036
Email: info@co-dx.com
Sitio web: www.co-dx.com

**Representante autorizado:**

mdi Europa GmbH
Langenhagener Str. 71
D-30855 Hannover-Langenhagen
Alemania
Teléfono: +49 511 39 08 95 30
Email: info@mdi-europa.com
Sitio web: www.mdi-europa.com

**Rx only**

13 REFERENCIAS

- CDC. (2009). *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition*. Obtenido de CDC Laboratories: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>
- CDC. (2020, Feb 7). *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Information for Laboratories*. Obtenido de 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)*. Obtenido el 15 de septiembre de 2018 de la Organización Mundial de la Salud: 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*. Obtenido el 5 de marzo de 2019, a partir de 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. Obtenido de <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*. Obtenido de Emergencies preparedness, response: https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

14 LEYENDA DE LOS SÍMBOLOS DE LOS ENVASES

Consulte Tabla 19 para la leyenda de los símbolos de los envases

Tabla 19

Leyenda de los símbolos de los envases

Icono	Definición
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo
	Código de lote
	Color de la tapa
	Componente
	Contenido/Volumen
	Número
	Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para 100, 250 o 5.000 reacciones
	Proteger de la luz
	Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso
	Producto no estéril - No esterilizar
	Fabricante
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Marcado CE para IVD en cumplimiento de la Directiva 98/79/EC de la UE (IVDD)