

## Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2

**REF** PCRAE0120

Para uso con el instrumento VitaPCR™

Para muestras de frotis nasofaríngeos (NF) u orofaríngeos (OF)

---

### USO PREVISTO

---

El ensayo VitaPCR™ SARS-CoV -2 Gen 2 realizado con el instrumento VitaPCR™ es una prueba para el diagnóstico molecular rápido *in vitro* que utiliza la tecnología de amplificación mediante una reacción en cadena de la polimerasa de retrotranscripción (RT-PCR) en tiempo real para la detección cualitativa del ARN del virus causante la enfermedad por coronavirus de 2019 (COVID-19) en frotis nasofaríngeos (NF) u orofaríngeos (OF) obtenidos de pacientes sospechosos de tener la COVID-19 por el personal de atención médica.

Los resultados sirven para la identificación de una posible infección por SARS-CoV-2. La identificación definitiva de la infección por SARS-CoV-2 requiere la realización de pruebas adicionales de confirmación en consulta con las autoridades de salud pública u otras autoridades para las que se requiere la notificación. El diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 debe realizarse teniendo en cuenta los antecedentes, los signos, los síntomas, la probabilidad de exposición y otros datos analíticos, además de la identificación del SARS-CoV-2.

Los ensayos moleculares rápidos que identifican el virus diana en pacientes infectados por SARS-CoV-2 pueden ayudar al control eficaz del brote pandémico. La infección por SARS-CoV-2 no queda descartada por un resultado negativo. Los resultados no deben utilizarse como única base para el diagnóstico, el tratamiento u otras decisiones de tratamiento de los pacientes.

El ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 está destinado a ser utilizado por profesionales de la salud.

---

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

---

El Coronavirus 2019 (COVID-19) es una enfermedad respiratoria aguda provocada por la infección por SARS-CoV-2 que se notificó por primera vez a la OMS en Wuhan (China) el 31 de diciembre de 2019. El SARS-CoV-2 forma parte de la misma familia de virus que el virus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS) y se disemina de persona a persona. Las gotitas cargadas de virus procedentes de una persona infectada pueden transmitirse a través de la nariz, los ojos, la boca u otro.

Los síntomas de infección por SARS-CoV-2 son variables, y pueden causar una enfermedad leve que incluye rinorrea, dolor de garganta, tos y fiebre. En los casos graves puede provocar neumonía, dificultad para respirar o muerte.

El ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 realizado en el instrumento VitaPCR™ es una prueba para el diagnóstico molecular rápido *in vitro* que utiliza la tecnología de amplificación mediante una reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (RT-PCR) en tiempo real para la detección cualitativa del SARS-CoV-2. El producto contiene cebadores, sondas marcadas con fluorocromo y material de control utilizados en una RT-PCR a tiempo real para la detección cualitativa *in vitro* de ARN específico del SARS-CoV-2 en muestras respiratorias.

---

### PRINCIPIO DEL ENSAYO

---

El ensayo VitaPCR™-CoV-2 Gen 2 realizado en el instrumento VitaPCR™ es una prueba para el diagnóstico molecular rápido *in vitro* que utiliza la tecnología de amplificación mediante una reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (RT-PCR) en tiempo real. Se utiliza para la detección cualitativa y la discriminación del ARN vírico del SARS-CoV-2 en frotis directos nasofaríngeos (NF) u orofaríngeos (OF) obtenidos de pacientes sospechosos de tener la COVID-19 por el personal de atención médica. El ensayo está diseñado para detectar tanto el ARN específico del SARS-CoV-2 como el ARN universal similar al SARS (incluidos el SARS-CoV-2, el SARS-CoV y el coronavirus de tipo SARS en murciélago), y ambos objetivos de detección se localizan en regiones del gen de la nucleocápside (N) del virus. El ensayo incluye un ARN monocatenario artificial como control interno (CI) para monitorizar todo el proceso de RT-PCR.

La detección de las secuencias diana se realiza mediante la medición en tiempo real de la escisión de la sonda de detección marcada con fluorocromo específica para SARS-CoV-2, la sonda de tipo SARS universal y la sonda de detección del ARN de control interno tras la amplificación de la secuencia mediante los respectivos pares de cebadores específicos. El Tubo de Reactivo se carga en el instrumento VitaPCR™ y el tiempo de obtención de resultados para el análisis de una muestra es de aproximadamente 20 minutos.

## REACTIVOS Y MATERIALES

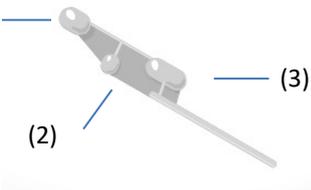
### Materiales suministrados

Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2	
	<b>Tampón de obtención de muestras VitaPCR™_A:</b> Tubo de plástico con tapón roscado que contiene 4 ml de tampón de obtención de muestras.
	<b>Tubo de reactivo:</b> Tubo de ensayo transparente con reactivos liofilizados para la amplificación específica del ARN del SARS-CoV-2.
	<b>Tapón para tubo de reactivo:</b> Tapón de plástico utilizado para cerrar herméticamente el tubo de reactivo una vez añadida la muestra.
Guía de consulta rápida para el Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2	

### Materiales necesarios no suministrados

	Instrumento VitaPCR™
	Gradilla
	Adaptador de alimentación (ENTRADA: 100-240V CA, 2,0A Máx, 50-60Hz. SALIDA: 12VCC, 5A)
	<b>Hisopos para frotis nasofaríngeo o frotis orofaríngeo:</b> Para un rendimiento óptimo del ensayo, utilizar ÚNICAMENTE hisopos que cumplan los requisitos de la Directiva CE relativa a los productos sanitarios. Para evitar las interferencias, no utilizar hisopos con varillas de madera o hisopos de alginato de calcio, ya que pueden contener inhibidores de la reacción. Recomendamos encarecidamente el uso de hisopos flocados o hisopos de fibra sintética con varillas de plástico.
Manual de Usuario del instrumento VitaPCR™ Guía de consulta rápida para el instrumento VitaPCR™	

### Materiales no suministrados para comprar por separado

	<b>Pipeta de transferencia:</b> Componente plástico desechable de un solo uso con tres perillas de aire. La <b>perilla superior (1)</b> se utiliza para succionar y liberar la solución. La <b>perilla intermedia (2)</b> se utiliza para pipetear. La <b>perilla inferior (3)</b> es la cámara de desbordamiento. Se utiliza para transferir la muestra eluida del tampón de obtención de muestras al tubo de reactivo.
	<b>Pipeta ajustable y punta de filtro:</b> Las pipetas ajustables dispensan la misma cantidad de líquido cada vez. Se utiliza para transferir el extracto de la muestra desde el tampón de obtención de muestras al tubo de reactivo.

## **Materiales disponibles para comprar por separado**

Control externo	
Juego de Controles Externos VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2	Hay disponibles controles externos, aunque no se suministren con este ensayo. Póngase en contacto con su distribuidor local en caso de necesitarlos.

---

## **PRECAUCIONES**

---

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Evitar cualquier contacto de la piel con el tampón de obtención de muestras. Ponerse guantes antes de realizar el ensayo.
3. Para uso exclusivo con el instrumento VitaPCR™.
4. Tratar todas las muestras como material potencialmente infeccioso. Respetar las instrucciones universales para la manipulación de las muestras, este kit y su contenido. Consultar las directrices para la manipulación de muestras.
5. La obtención, el almacenamiento y el transporte adecuados de las muestras son fundamentales para obtener resultados correctos. Utilizar únicamente los tipos de muestras validadas, descritas en Uso previsto.
6. No se recomiendan los hisopos de pacientes previamente almacenados en VTM o UTM ya que invalidarían la prueba.
7. No abrir el precinto de los tubos de reactivo antes de realizar el ensayo.
8. El kit no debe utilizarse después de la fecha de caducidad.
9. Si algún componente del ensayo se cae, se agrieta, se encuentra dañado o abierto al recibirlo, NO UTILIZAR y desechar. No utilizar tijeras ni objetos afilados para abrir las bolsas de aluminio, ya que pueden dañarse las piezas del ensayo.
10. En caso de que se vierta tampón de obtención de muestras al abrirlo, limpiar el área de trabajo siguiendo las instrucciones suministradas en el Manual del usuario del equipo. Volver a empezar el ensayo con un nuevo tampón de obtención de muestras si así se requiere o si se sospecha que pudiera haberse contaminado.
11. No dejar nada en la gradilla o en el dispositivo una vez realizado el ensayo. Tal como se indica en las instrucciones sobre eliminación descritas en el Manual del Usuario del equipo, desechar los elementos de conformidad con los requisitos locales y nacionales pertinentes. Seguir las normativas locales o nacionales para la eliminación de residuos.
12. Todos los materiales del kit son elementos de un solo uso. No aplicar en más de una muestra.
13. El tubo de reactivo contiene muchos segmentos del virus tras la reacción. Se debe eliminar y no se debe abrir la tapa tras realizar el ensayo.
14. En raras ocasiones, las muestras para ensayo pueden contener inhibidores que impiden la realización del ensayo. La tasa de fallos es un resultado que varía caso por caso.
15. Las muestras positivas previamente analizadas que se dejen alrededor del área de trabajo pueden provocar resultados falsos positivos. Manipular las muestras conforme a las prácticas de laboratorio normalizadas. Limpiar el equipo y las superficies circundantes siguiendo las instrucciones indicadas en el Manual del Usuario.
16. Las muestras con sangre visible pueden interferir en el rendimiento del ensayo.
17. No tocar las puntas de los hisopos para muestras. Pueden contaminarse e interferir en el rendimiento del ensayo.

---

## **CONTROL DE CALIDAD**

---

### **Control Interno (CI)**

El control interno que comprueba todo el proceso de PCR está incluido en cada tubo de reactivo. El control interno supervisa la validez del reactivo en las reacciones de PCR asociadas a la muestra. Entre todos los resultados generales, el control interno muestra la señal constantemente. En algunas circunstancias especiales, es posible que la diana sea detectada sin señal de control interno debido a la inhibición molecular.

### **Controles positivos y negativos externos**

- El control positivo incluye un transcrito de ARN del segmento del gen N del SARS-CoV-2, cuya secuencia se utiliza tanto para los conjuntos de cebador/sonda universales como para los conjuntos de cebadores/sondas específicos para la diana.
- Transferir 40 µl de Control Positivo al Tampón de Obtención de Muestras del Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 e observar el procedimiento de análisis inmediatamente para completar la prueba de control positivo.
- El Tampón de Obtención de Muestras (SCB) puede utilizarse como control negativo; para hacerlo, seguir el procedimiento de análisis para realizar la prueba de control negativo.
- Los controles se utilizan para los análisis de control de calidad y cada vez que se reciben nuevos envíos de kits o se realiza la

formación de un nuevo operador, y se aplican de conformidad con las normativas locales, estatales o federales, los organismos de acreditación y los procedimientos normalizados de control de calidad del laboratorio.

- En caso de que falle el análisis de control de calidad externo, repetir el ensayo o ponerse en contacto con el distribuidor local.

Control de calidad					
Tipo de control	Tipo de control Nombre del control externo	Utilizado para controlar	ARN específico del SARS- CoV-2	ARN de tipo SARS universal	Control interno
Control positivo	Segmento del gen N del SARS- CoV-2	Fallo considerable del reactivo, incluida la integridad del cebador y la sonda de detección	+	+	+
Control negativo	Tampón de obtención de muestras	Contaminación del reactivo y/o ambiental	-	-	+

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacenar el kit de reactivo a 5-25 °C. El ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 es estable antes de la fecha de caducidad indicada en el embalaje exterior y en los envases. Comprobar que todos los materiales del ensayo han alcanzado la temperatura ambiente antes de su uso.

## OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y MANIPULACIÓN

Utilizar muestras recién obtenidas para un rendimiento óptimo del ensayo. La obtención de una cantidad insuficiente de muestra o una manipulación/almacenamiento/transporte inadecuados pueden derivar en resultados erróneos.

Para un rendimiento óptimo del ensayo, utilizar ÚNICAMENTE hisopos que cumplan los requisitos de la Directiva CE relativa a los productos sanitarios. Para evitar las interferencias, no utilizar hisopos con varillas de madera o hisopos de alginato de calcio, ya que pueden contener inhibidores de la reacción. Recomendamos encarecidamente el uso de hisopos flocados o hisopos de fibra sintética con varillas de plástico. Colocar inmediatamente los frotis nasofaríngeos u orofaríngeos obtenidos de un paciente en tampón de obtención de muestras.

### **Frotis nasofaríngeo (frotis NF)**

Introducir con cuidado el hisopo en el orificio nasal y desplazarlo directamente hacia la parte posterior, sin inclinar la punta del hisopo hacia arriba ni hacia abajo. Mediante una suave rotación, introducir en las fosas nasales anteriores en paralelo al paladar y hacer avanzar el hisopo hacia la nasofaringe; dejar colocado unos segundos y, a continuación, girar lentamente el hisopo a medida de que se retira. Para garantizar una obtención adecuada, el hisopo debe recorrer una distancia que represente la mitad de la distancia desde la nariz hasta la punta de la oreja. NO APLICAR FUERZA al introducir el hisopo.

### **Frotis orofaríngeo (frotis OF)**

Obtener muestras de la faringe posterior y las amígdalas, evitando la lengua.

## TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras obtenidas con el hisopo deben analizarse lo antes posible. Si no es posible realizar pruebas inmediatas, observen las siguientes directrices para el transporte y el almacenamiento:

1. La muestra en el hisopo se almacena a 2°C - 8°C hasta 24 horas.
2. Las muestras eluidas en el tampón de obtención de muestras pueden ser almacenadas a:
  - 2°C a 25°C hasta 7 días (Idealmente: 2°C a 8°C en el refrigerador).
  - Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben ser congeladas a -80°C.

No se recomiendan los hisopos de pacientes previamente almacenados en VTM o UTM ya que invalidarían la prueba.

**Nota: Mantengan la muestra a la temperatura indicada anteriormente. No congelen y descongelen las muestras repetidamente.**

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

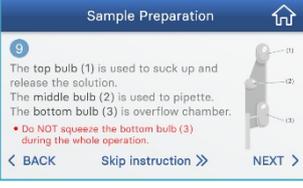
Antes de realizar el ensayo con VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2:

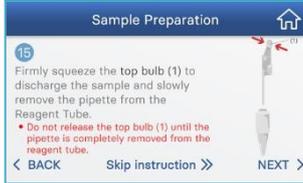
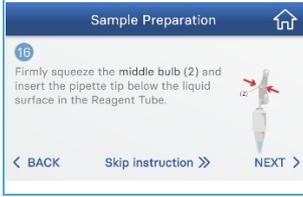
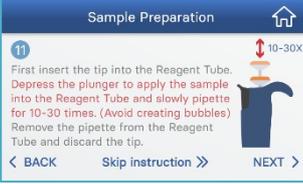
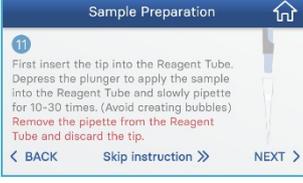
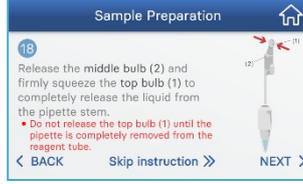
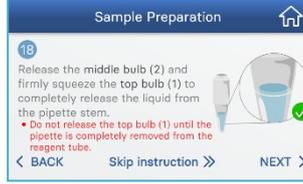
- Permitir que todas las muestras alcancen la temperatura ambiente.
- Permitir que todos los materiales del ensayo alcancen la temperatura ambiente.

Para obtener mejores resultados, los frotis nasofaríngeos u orofaríngeos deben analizarse inmediatamente después de su obtención.

<p>Colocar el instrumento VitaPCR™ en una superficie plana. Encender el instrumento VitaPCR™ pulsando el botón de encendido situado en la parte frontal del equipo.</p>	
<p>Seleccionar la ID del usuario ["Select User ID"]. Introducir la contraseña del usuario ["Enter User Passcode"]. Pulsar "Log in" (Entrar).</p>	
<p>Pulsar "Run Test" (Ejecutar ensayo).</p>	
<p>Leer el código de barras del paquete de reactivos utilizando el lector de códigos de barras integrado en la parte frontal inferior del instrumento VitaPCR™.</p>	
<p>Leer o teclear la ID del paciente ["Patient ID"]. Confirmar el kit de producto ["Product Kit"] y la ID del paciente ["Patient ID"].</p>	
<p>1. Etiquetar el vial de tampón con la ID del paciente y la fecha.</p>	
<p>2. Desenroscar el tapón del vial de tampón.</p>	

<p>3. Introducir los hisopos nasofaríngeos u orofaríngeos en el vial de tampón. Hacer girar los hisopos contra la pared del vial <b>al menos 15 veces</b>. Desechar el hisopo.</p>	
<p>4. Enroscar el tapón del vial de tampón</p>	
<p>5. Invertir el vial de tampón <b>10 veces</b>. Colocar el vial de tampón en la gradilla.</p>	
<p>6. Abrir el precinto de los reactivos y sacar el tubo de reactivo Golpear suavemente el tubo para confirmar que el reactivo quede en el fondo del tubo de reactivo.</p>	
<p>7. Colocar el vial de tampón y el tubo de reactivo en la gradilla.</p>	
<p style="text-align: center;"><b>Escoger la pipeta que se va a utilizar.</b></p> 	

Pipeta ajustable y punta de filtro		Pipeta de transferencia	
<p>8. Retirar el precinto de aluminio del tubo de reactivo. Desenroscar el tapón del vial de tampón.</p>		<p>8. Retirar el precinto de aluminio del tubo de reactivo. Desenroscar el tapón del vial de tampón. Recuperar la pipeta del paquete.</p> <p>9. La <b>perilla superior (1)</b> se utiliza para succionar y liberar la solución. La <b>perilla intermedia (2)</b> se utiliza para pipetear. La <b>perilla inferior (3)</b> es la cámara de desbordamiento.</p> <p><b>*NO aprieten la perilla inferior (3) durante toda la operación.</b></p>	 
<p>9. Establecer el volumen en 30 µl si está usando una pipeta de volumen ajustable.</p> <p>Colocar la punta en la pipeta firmemente.</p>	 	<p>10. Apretar firmemente la <b>perilla superior (1)</b> y no la suelten.</p> <p>11. Mantener la <b>perilla superior (1)</b> apretada y sumergir la punta de la pipeta debajo del nivel del <b>tampón de obtención de muestras</b>.</p> <p>12. Mantener la punta de la pipeta debajo del nivel del líquido y soltar suavemente la <b>perilla superior (1)</b>.</p> <p>13. Comprobar que la pipeta esté llena de líquido sin burbujas.</p>	   
<p>10. Mantener el émbolo presionado e insertar la punta en el tampón de obtención de muestras.</p> <p>Liberar lentamente el émbolo para aspirar el líquido.</p>		<p>14. Introducir la punta de la pipeta en el <b>Tubo de Reactivo</b>.</p> <p>15. Apretar firmemente la <b>perilla superior (1)</b> para soltar la muestra y retirar lentamente la pipeta del tubo de reactivo.</p>	

<p><b>*No debe haber presencia de burbujas en la punta.</b></p>		<p><b>* NO suelten perilla superior (1) hasta que la pipeta se haya retirado completamente del tubo de reactivo.</b></p>	
		<p>16. Apretar firmemente la <b>perilla intermedia (2)</b> y sumergir la punta de la pipeta debajo del nivel del <b>tampón de obtención de muestras</b>.</p> <p>17. Soltar y apretar continuamente la <b>perilla intermedia (2)</b> hasta pipetear <b>de 10 a 30 veces</b> y disolver el reactivo en la muestra.</p>	 
<p>11. Primero insertar la punta en el tubo de reactivo.</p> <p>Presionar el émbolo para aplicar la muestra en el Tubo de Reactivo y distribuir lentamente con la pipeta de 10 a 30 veces.</p> <p>Retirar la pipeta del tubo de reactivo y desechar la punta.</p> <p><b>*Nota: Evitar la creación de burbujas</b></p>	  	<p>18. Soltar la <b>perilla intermedia (2)</b> y apretar firmemente la <b>superior (1)</b> para liberar completamente el líquido de la pipeta.</p> <p><b>*NO soltar la perilla superior (1) hasta que la pipeta se haya retirado completamente del tubo de reactivo.</b></p>	 
<p>12. Recuperar el tapón de reactivo. Cerrar el tubo con el tapón. (presionar el tapón hasta que se oiga un "clic")</p> <p><b>*Nota: Asegúrense de que no haya ningún espacio entre el tapón y el tubo de reactivo.</b></p>		<p>19. Recuperar el tapón de reactivo. Cerrar el tubo con el tapón. (presionar el tapón hasta que se oiga un "clic")</p> <p><b>*Nota: Asegúrense de que no haya ningún espacio entre el tapón y el tubo de reactivo.</b></p>	

13. Agitar el tubo con un movimiento rápido y brusco hacia abajo, tres veces, para eliminar las burbujas.



20. Agitar el tubo con un movimiento rápido y brusco hacia abajo, tres veces, para eliminar las burbujas.



Pulsar el botón para abrir la tapa.

Introducir el tubo de reactivo y cerrar la tapa.

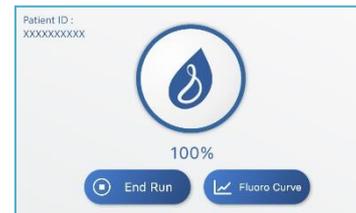
Pulsar "Run" (ejecutar) para iniciar la reacción.



Comprobar que el porcentaje de progreso del proceso indicado en la pantalla del instrumento VitaPCR™ va aumentando. La barra de progreso se vuelve azul cuando la reacción está en curso.

**Nota:**

- La pantalla seguirá mostrando el porcentaje hasta completarse el 100%. El instrumento VitaPCR™ emitirá un sonido al final del procedimiento analítico.
- Durante la reacción, la tapa está bloqueada. No intentar volver a abrir la tapa del instrumento VitaPCR™ hasta que la pantalla indique que se ha completado el ensayo.
- Para cancelar el ensayo, pulsar "End Run" (finalizar ensayo) y esperar a que se muestren las indicaciones en la pantalla.
- No mueva ni desconecte el instrumento VitaPCR™ mientras el ensayo está en curso.



**Interpretación de los resultados:**



**Nota:** Pulsar "New Test" (nuevo ensayo) para iniciar un nuevo ensayo.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS Y NOTIFICACIÓN

En la siguiente tabla se enumeran los resultados esperados para el ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2.

Detección del ARN específico del SARS-CoV-2	Detección del ARN de tipo SARS universal	Control interno	Resultado	Interpretación
+	+	±	Positivo	ARN específico del SARS-CoV-2 detectado. (Se detectan tanto el ARN específico del SARS-CoV-2 como el ARN universal de tipo SARS.)
+	-	±		ARN específico del SARS-CoV-2 detectado. (El ARN universal de tipo SARS no se detecta, posiblemente por una baja carga vírica en la muestra o por la acumulación de mutaciones a lo largo del tiempo.)
-	+	±	Presunto positivo	Presunto positivo para el ARN del SARS-CoV-2.  (El ARN específico del SARS-CoV-2 no se detecta, posiblemente por una baja carga vírica en la muestra o por la acumulación de mutaciones a lo largo del tiempo.)  La muestra debe ser reexaminada. En el caso de muestras con un resultado presuntamente positivo repetido, se pueden realizar pruebas de confirmación adicionales, si es necesario diferenciar entre el SARS-CoV-2 y el SARS-CoV-1 u otros coronavirus de tipo SARS que actualmente se desconocen y que infectan a los seres humanos, con fines epidemiológicos o de gestión clínica.
-	-	+	Negativo	ARN específico del SARS-CoV-2 sin detectar.
-	-	-	Inválido	Inhibición de la RT-PCR o fallo del reactivo. Recoger una muestra nueva y repetir el ensayo.

**NOTA:**  
Debido a la evolución molecular del SARS-CoV-2, existe un riesgo inherente de que cualquier sistema basado en la PCR dé resultados falsos negativos debido a la acumulación de mutaciones a lo largo del tiempo.

---

## LIMPIEZA DEL EQUIPO

---

Recomendamos limpiar el instrumento VitaPCR™ todos los días después de su uso.

### **Procedimiento:**

1. Desconectar el cable de alimentación de la toma eléctrica y del instrumento VitaPCR™.
2. Cerrar la tapa.
3. Limpiar suavemente las superficies externas del instrumento VitaPCR™ con etanol al 70 % o con una toallita desechable con bactericida, eliminando cualquier residuo de polvo.

**NOTA: No presionar la toallita contra las ranuras de ventilación del Instrumento VitaPCR™.**

4. Con un paño nuevo, limpiar la parte frontal del VitaPCR™, dos veces de arriba a abajo y dos veces de izquierda a derecha. Repetir esta operación para las partes posterior, superior e inferior del VitaPCR™.
5. No dejen que se acumule líquido alrededor de ninguna abertura. Asegurarse de que no entre líquido en el equipo.
6. Dejar que la unidad se seque durante al menos 10 minutos y comprobar que esté totalmente seca antes de volver a conectar el cable de alimentación del adaptador de CA.

---

## LIMITACIONES

---

- El rendimiento del Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 está determinado por los procedimientos descritos en este documento. La falta de observación de las instrucciones puede alterar el rendimiento del ensayo.
- El ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 está diseñado para su uso con muestras de frotis nasofaríngeo u orofaríngeo.
- La obtención, el almacenamiento o el transporte inadecuados de las muestras puede dar lugar a resultados falsos negativos.
- Los resultados del ensayo deben interpretarse junto con los antecedentes, los signos y síntomas y los resultados de otros ensayos diagnósticos.
- Tal y como ocurre en otros ensayos, un resultado negativo no descarta la infección por SARS-CoV-2 y no debe utilizarse como única base para decidir el tratamiento del paciente.
- Puede obtenerse un resultado falso negativo en caso de que los niveles de virus sean inferiores al límite de detección.
- Puede obtenerse un resultado falso negativo en caso de que se acumulen mutaciones en la región diana del ensayo.
- La presencia de inhibidores en la muestra puede dar lugar a un resultado inválido.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

### Sensibilidad analítica (límite de detección, LdD)

Los estudios de LdD determinan la concentración más baja detectable en la que  $\geq 95\%$  (19/20) de las réplicas son positivas. El virus recombinante que contiene el ARN del SARS-CoV-2 (Seracare, AccuPlex SARS-CoV-2, número de material 0505-0129) fue diluido en serie en una matriz clínica simulada para el estudio de determinación del LdD. El AccuPlex SARS-CoV-2 se añade a una concentración conocida en el tampón de obtención de muestras (SCB) que contiene una matriz clínica negativa que simula una muestra clínica. La matriz clínica negativa se crea a partir de las muestras NF o OF obtenidas de pacientes, almacenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  en un tubo de plástico, limpio y seco, cerrado herméticamente durante un máximo de 24 horas antes de realizar el ensayo. Las muestras cumplen los procedimientos normalizados de trabajo con el ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 según las instrucciones de uso.

Estos datos demuestran que el ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 detecta 1,0 copias/ $\mu\text{l}$  del virus recombinante del SARS-CoV-2 con una confianza  $\geq 95\%$ . Por tanto, esta concentración sirve como límite de detección.

Sensibilidad analítica de detección (LdD) de una región específica del SARS-CoV-2			
Concentración de ARN (copias/ $\mu\text{l}$ )	% de detección de réplicas	CT promedio	Desviación estándar (Ct)
1,0	100 (20/20)	37,00	1,45
0,5	90 (18/20)	37,94	0,94

Sensibilidad analítica de detección (LdD) de la región universal de tipo SARS			
Concentración de ARN (copias/ $\mu\text{l}$ )	% de detección de réplicas	CT promedio	Desviación estándar (Ct)
1,0	100 (20/20)	37,95	1,10
0,5	85 (17/20)	39,47	0,94

### Análisis de especificidad in silico (reactividad cruzada)

Se realizó un análisis BLASTn con el cebador y la sonda del ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 con todas las secuencias de ácidos nucleicos públicamente disponibles en GenBank a fecha 6 de marzo de 2020. La recopilación de nucleótidos incluye secuencias de GenBank, EMBL, DDBJ, PDB y RefSeq, y excluye las secuencias patentadas de EST, STS, GSS, WGS y TSA, así como las secuencias HTGS de fase 0, 1 y 2 y las secuencias de más de 100 Mb. Los parámetros de búsqueda se ajustaron automáticamente para las secuencias cortas y el umbral esperado es de 1000. Las puntuaciones para emparejamiento y no emparejamiento son de 1 y 3, respectivamente. La penalización por crear y ampliar un espacio vacío es de 5 y 2, respectivamente.

#### **cebador/sonda específico del SARS-CoV-2**

Las secuencias de cebadores directas y reversas para el ARN específico del SARS-CoV-2 mostraron una elevada homología de secuencia con los coronavirus de murciélago. Sin embargo, la secuencia de la sonda no mostró homología de secuencia con el genoma del coronavirus del SARS, el coronavirus de tipo SARS en murciélago u otros coronavirus (excepto con el coronavirus de murciélago RaTG13) o el genoma humano. Combinando los cebadores y la sonda no se prevé obtener resultados falsos positivos en la RT-PCR.

#### **cebador/sonda tipo SARS universal**

El análisis de las secuencias de cebador y sonda directas y reversas del ARN universal de tipo SARS mostró una homología significativa sólo con el coronavirus del SARS humano y el coronavirus del SARS de murciélago. Combinando los cebadores y la sonda, no hay homologías significativas con el genoma humano, u otros coronavirus (excepto el coronavirus del murciélago RaTG13) que puedan predecir posibles resultados falsos positivos de la RT-PCR.

En resumen, no se prevé ninguna posible reactividad cruzada no intencionada para ambas dianas.

### **Especificidad analítica (reactividad cruzada)**

El rendimiento de reactividad cruzada del Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 se evaluó analizando los organismos completos o las muestras representativas apropiadas que se enumeran a continuación. En este estudio se analizaron por triplicado los microorganismos indicados. Se añadió un alto nivel de estos organismos (es decir, 10<sup>6</sup> CFU/ml para las bacterias y 10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/ml para los virus) en el tampón de obtención de muestras con matriz clínica, y luego se analizó con el Ensayo VitaPCRTM SARS-CoV-2 Gen 2 con el mismo procedimiento operativo para ver si se identificaba alguna reacción de falso positivo.

No se observó ninguna reactividad cruzada del Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 con los organismos seleccionados en las concentraciones probadas. El coronavirus del SARS se debería detectar intencionalmente con el cebador/la sonda tipo SARS universal (los resultados se han ilustrado como "Presunto Positivo").

Organismos	Concentración	Detección de ARN específico del SARS-CoV-2	Detección del ARN de tipo SARS universal
		Resultado (x/3)	Resultado (x/3)
Coronavirus humano 229E	1,00x10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Adenovirus humano tipo 1	5,62x10 <sup>8</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Gripe A/California/7/2009 (H1N1)	3,16x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Gripe A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	3,16x10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Gripe B/Malaysia/2506/2004 (B/Victoria)	3,16x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Virus sincitial respiratorio (largo A)	1,17x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3

### **Estudio de sustancias interferentes endógenas**

Para demostrar que la función determinada del ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 seguirá funcionando durante el análisis de una muestra en presencia de sustancias endógenas frecuentes, analizamos la sustancia interferente de forma individual, y añadimos muestras positivas a una concentración de 3 veces el LdD con la sustancia de interferencia respectiva para observar si se producían resultados inesperados. Cada análisis incluyó tres réplicas.

**Sustancias interferentes:** La tabla siguiente evalúa las sustancias interferentes en función de su capacidad para generar resultados falsos *positivos*:

Posible sustancia interferente	Concentración	Resultado (detectado x/3)
Mucina	0,05%	0/3
Sangre	0,1%	0/3

**Sustancias interferentes:** La tabla siguiente evalúa las sustancias interferentes en función de su capacidad para generar resultados falsos *negativos*:

Posible sustancia interferente	Concentración	Resultados Spike 3xLdD SARS-CoV-2 (detectado x/3)
Mucina	0,05%	3/3
Sangre	0,1%	3/3

## Rendimiento clínico

Debido a la dificultad de obtener muestras clínicas de pacientes infectados por SARS-CoV-2, las características de rendimiento del Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 se han evaluado utilizando muestras clínicas artificiales. El virus recombinante que contiene el ARN del SARS-CoV-2 (Seracare, AccuPlex SARS-CoV-2, número de material 0505-0129) se ha utilizado en este testeo. Este virus recombinante que contiene ARN del SARS-CoV-2 con título notorio se ha preparado para inyectar 30 muestras individuales de hisopos NF u OF negativos en concentraciones diferentes. Estas se han añadido de forma enmascarada y aleatoria al tampón de obtención de muestras en el que se han lavado las muestras de frotis NF u OF de individuos negativos. A 20 muestras de frotis NF u OF se les han añadido una concentración de 1,5 veces el LdD, a 5 muestras 3 veces el LdD y a 5 muestras 5 veces el LdD. Otras 30 muestras de frotis NF u OF de individuos negativos se han dejado sin adición de ARN vírico. En resumen, se han añadido muestras de frotis NF u OF a muestras artificiales con distintas concentraciones y luego se ha realizado el ensayo tal y como se describe en este apartado.

Las 60 muestras se han mantenido enmascaradas y se han manipulado por operadores sin sesgo para su análisis mediante el Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2 con el fin de generar el Porcentaje de Concordancia Positiva (PCP), el Porcentaje de Concordancia Negativa (PCN) y el Porcentaje de Concordancia General (PCG) como medida de estimación de la exactitud diagnóstica.

Muestras nasofaríngeas (NF)		Muestra clínica artificial (resultado esperado)	
Variable	Estado	Positivo	Negativo
Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2	Positivo	30	0
	Negativo	0	30
Porcentaje de Concordancia Positiva (PCP) (CI del 95%) <sup>1</sup>		100% (88,4 - 100)	
Porcentaje de Concordancia Negativa (PCN) (CI del 95%) <sup>2</sup>		100% (88,4 - 100)	
Porcentaje de Concordancia Global (PCG) (CI del 95%) <sup>3</sup>		100% (94,0 - 100)	
Nota: 1 Porcentaje de Concordancia Positiva = [positivos reales / (positivos reales + falsos negativos)] *100 % 2 Porcentaje de Concordancia Negativa = [negativos reales / (negativos reales + falsos positivos)] *100% 3 Porcentaje de Concordancia Global = [(positivos reales + negativos reales) / (positivos reales + falsos negativos + negativos reales + falsos positivos)] *100%			

Muestras orofaríngeas (OF)		Muestra clínica artificial (resultado esperado)	
Variable	Estado	Positivo	Negativo
Ensayo VitaPCR™ SARS-CoV-2 Gen 2	Positivo	30	0
	Negativo	0	30
Porcentaje de Concordancia Positiva (PCP) (CI del 95 %) <sup>1</sup>		100% (88,4 - 100)	
Porcentaje de Concordancia Negativa (PCN) (CI del 95 %) <sup>2</sup>		100% (88,4 - 100)	
Porcentaje de Concordancia Global (PCG) (CI del 95%) <sup>3</sup>		100% (94,0 - 100)	
Nota: 1 Porcentaje de Concordancia Positiva = [positivos reales / (positivos reales + falsos negativos)] *100 % 2 Porcentaje de Concordancia Negativa = [negativos reales / (negativos reales + falsos positivos)] *100% 3 Porcentaje de Concordancia Global = [(positivos reales + negativos reales) / (positivos reales + falsos negativos + negativos reales + falsos positivos)] *100%			

## DATOS DE CONTACTO, PEDIDOS Y ASISTENCIA TÉCNICO SOBRE EL PRODUCTO

Para obtener asistencia técnica y acerca del producto, pónganse en contacto a través del correo electrónico:  
[service@credodxbiomed.com](mailto:service@credodxbiomed.com)

## SÍMBOLOS

	No reutilizar		Fabricante
	Consúltense las instrucciones de uso		Control positivo
	Precaución		Control negativo
	Limitación de temperatura		Número de catálogo
	Fecha de caducidad		Válido para <n> ensayos
	Código de lote		Número de identificación del paciente
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Manténgase protegido de la luz del sol
	No utilizar si el envase está dañado		Manténgase seco
	Marca CE		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	RAEE: los equipos electrónicos marcados con este símbolo están sujetos a la Directiva 2012/19/UE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE) y no pueden eliminarse a través del sistema de residuos municipal.		

 **Trentron Biomedical Ltd**  
 (Edificio A) 35F, Nº 99, Sec. 1, Xintai 5th Rd.,  
 Xizhi Dist., Nueva Taipéi 22175, Taiwán  
 (República de China) Tel.: +886-2-2697-  
 2728

Fax: +886-2-2697-1876

Correo-e: [service@credodxbiomed.com](mailto:service@credodxbiomed.com)

[www.credodxbiomed.com](http://www.credodxbiomed.com)



MedNet GmbH  
 Borkstraße 10, 48163 Münster,  
 Alemania