



Wallac Oy
Mustionkatu 6
FI-20750 Turku, Finland

revvity.com

Phone +358 - (0)2 - 267 8111
Fax +358 - (0)2 - 267 8357

Statement on the company corp name and brand change

To whom it may concern

PerkinElmer, Inc., which is the wholly owner of Wallac Oy, has changed its name to Revvity, Inc.

Our manufacturing company as a legal entity is and will remain Wallac Oy, and its facilities will remain at the exact location at Mustionkatu 6, FI-20750 TURKU, FINLAND.

This company corp. name change which generates a new brand, is causing a change in our outer packaging, labeling, and instructions for use of our products with minor changes such as box color and change from the old PerkinElmer brand to Revvity.

Wallac Oy declares that the product itself has remained the same. Product safety, efficacy, functionality, and performance are not affected. As well as the name of the product and its manufacturer remains the same.

Sincerely

Petri Kallio
Managing Director

Date: June 14th, 2023



PerkinElmer, Inc., que es propietario total de Wallac Oy, ha cambiado su nombre a Revvity, Inc.

Nuestra empresa fabricante como entidad legal es y seguirá siendo Wallac Oy, y sus instalaciones permanecen en la ubicación exacta en Mustionkatu 6, FI-20750 TURKU, FINLANDIA.

Esta empresa corp. cambio de nombre por lo tanto genera una nueva marca, esto está provocando un cambio en nuestro embalaje exterior, etiquetado e instrucciones de uso de nuestros productos, con cambios menores como color de la caja y cambio de la antigua marca PerkinElmer a Revvity. Wallac Oy. Declaramos que el producto en sí sigue siendo el mismo. La seguridad del producto, eficacia, la funcionalidad y el rendimiento no se ven afectados. Así como el nombre del producto y el fabricante sigue siendo el mismo.

3504-0010

PKamp™ Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit

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

Instrucciones de uso. Reactivos para 96 reacciones.

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

PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

CE

revvity

SÍMBOLOS

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

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

PKamp™ Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit

FINALIDAD DEL KIT

El PKamp™ Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit de Revvity está destinado a su uso para la detección cualitativa y diferenciación simultáneas del SARS-CoV-2, los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el virus respiratorio sincitial (VRS) a partir de los ARN extraídos de muestras de hisopos nasofaríngeos humanos, recogidos por el profesional sanitario, de personas con sospecha de infección vírica respiratoria compatible con la COVID-19. La finalidad de este kit es servir como ayuda en el diagnóstico diferencial de la infección por el SARS-CoV-2, los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS en humanos utilizando un instrumento de PCR en tiempo real.

El virus respiratorio sincitial no se detectará si la fluorescencia de Cy®5.5 no puede medirse con el instrumento de PCR en tiempo real.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El ARN del SARS-CoV-2, los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS puede detectarse normalmente en muestras obtenidas de las vías respiratorias superiores durante la infección. Los resultados positivos son indicativos de la presencia de ARN del SARS-CoV-2, un virus de la gripe A, un virus de la gripe B y/o el VRS. Sin embargo, los resultados positivos no descartan una infección bacteriana o una coinfección por otros virus. Los resultados negativos no excluyen la infección por el SARS-CoV-2, un virus de la gripe A, un virus de la gripe B y/o el VRS y no deben utilizarse como única base para tomar decisiones terapéuticas en el paciente. Los resultados negativos deben combinarse con las observaciones clínicas, los antecedentes del paciente y la información epidemiológica.

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

PRINCIPIOS DEL ENSAYO

El PKamp Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit utiliza una técnica de PCR en tiempo real basada en TaqMan™ para realizar la transcripción *in vitro* del ARN del SARS-CoV-2, los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS, la amplificación del ADN y la detección de fluorescencia.

Los cebadores y las sondas de oligonucleótidos para la detección del SARS-CoV-2 se dirigen contra las regiones genómicas específicas: el gen de la nucleocápside (N) y ORF1ab [1]. Los cebadores y las sondas para la detección de los virus de la gripe A y el VRS proceden de las regiones de la proteína de la matriz. Los cebadores y las sondas para la detección de los virus de la gripe B proceden de las regiones de la proteína de exportación

PKamp es una marca comercial de Revvity, Inc.

Cy5.5 es una marca registrada de GE Healthcare UK Limited.

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

nuclear (*nuclear export protein* [NEP]). Las sondas TaqMan™ para los dos amplicones del SARS-CoV-2 están marcadas con el fluoróforo FAM™, y las sondas para las dianas de los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS están marcadas con los fluoróforos ROX™, Cy®5 y Cy®5.5/Quasar® 705, respectivamente, para generar una señal específica de la diana.

El ensayo incluye sondas para la diana del gen RNasa P que se utiliza como control interno de ARN a fin de controlar los procesos desde la extracción del ácido nucleico hasta la detección de fluorescencia. La sonda de control interno (CI) está marcada con el fluoróforo HEX™/VIC™ para diferenciar su señal fluorescente del SARS-CoV-2, los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS. El ensayo también utiliza un sistema de prevención de arrastre dUTP/UNG para evitar la contaminación de los productos de la PCR y los consiguientes resultados falsos positivos.

CONTENIDO DEL KIT

Cada 3504-0010 PKamp Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit contiene reactivos para 96 reacciones que pueden utilizarse en un máximo de dos series independientes.

La fecha de caducidad del kit sin abrir viene indicada en una etiqueta exterior. Conserve el kit de –30 a –16 °C. Descongele el mix de enzimas en hielo o a una temperatura de +2 a +8 °C. Deje que los demás reactivos se descongelen durante 30 minutos permitiendo que alcancen la temperatura ambiente (de +19 a +25 °C) antes de usarlos. Cada vial en el kit puede tolerar hasta dos ciclos de congelación y descongelación. Una vez abierto, el kit debe usarse en un plazo de 30 días.

Reactivos

Componente	Cantidad	Almacenamiento y caducidad
Reagent A (Reactivo A)	1 vial, 950 µL	De –30 a –16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
TMAC, Mg ²⁺ , dNTP		

FAM y ROX son marcas comerciales de Thermo Fisher Scientific.
 Cy5 es una marca registrada de GE Healthcare UK Limited.
 Quasar es una marca registrada de Biosearch Technologies, Inc.
 HEX y VIC son marcas comerciales de Thermo Fisher Scientific.

Enzyme Mix (Mix de enzimas)	1 vial, 170 µL	De –30 a –16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
ADN polimerasa, transcriptasa reversa del MMLV, tampones, inhibidor de la RNasa, UNG		
NOTA: El mix de enzimas contiene 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil), etoxilado, al 0.25 % y nonilfenol, etoxilado, al 0.001 %. Véase el apartado «ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES».		
Reagent B1 (Reactivo B1)	1 vial, 200 µL	De –30 a –16 °C protegido de la luz hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Cebadores, sondas, tampón de TE		
Reagent B2 (Reactivo B2)	1 vial, 40 µL	De –30 a –16 °C protegido de la luz hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Cebadores, sondas, tampón de TE		
Positive Control (Control positivo)	1 vial, 1.4 mL	De –30 a –16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Secuencias de ARN en partículas similares al virus (PSV), tampón tris		
Negative Control (Control negativo)	2 viales, 1.4 mL	De –30 a –16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Tampón de TE		
Lot-specific quality control certificate (Certificado de control de calidad específico del lote)	1 unidad	

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT

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

1. Extracción de ARN: Kit de extracción de ácidos nucleicos Revvity™ (n.º de prod. CMG-1033-S) con el instrumento y el software chemagic™ 360 o método de extracción equivalente.
2. Cuando se utilice con el sistema de PCR en tiempo real Thermo Fisher QuantStudio™ Dx: son necesarias placas de calibración Cy®5 (n.º de prod. 4172-0010) y Cy®5.5 (n.º de prod. 4173-0010) para garantizar la calidad de la detección.
3. Cuando se utilice con el instrumento de PCR en tiempo real Analytik Jena® qTOWER³™, póngase en contacto con el representante de Revvity, que le proporcionará instrucciones sobre el modo de emplear el archivo de compensación del color modificado a fin de garantizar el mejor rendimiento.

Además, se necesita lo siguiente:

- PCR en tiempo real: Instrumentos con canales para FAM™, HEX™/VIC™, ROX™, Cy®5 y Cy®5.5/Quasar® 705 para detectar las dianas del SARS-CoV-2, virus de la gripe A, virus de la gripe B, VRS y RNasa P (p. ej., Thermo Fisher QuantStudio™ Dx Real-Time PCR System, Analytik Jena® qTOWER³™ Real-Time PCR Instrument o Bio-Rad® CFX96™ Real-Time PCR Detection System) o, de forma alternativa, instrumentos de PCR en tiempo real con canales para FAM™, HEX™/VIC™, ROX™ y Cy®5 para detectar las dianas del SARS-CoV-2, virus de la gripe A, virus de la gripe B y RNasa P (p. ej., Applied Biosystems™ 7500, 7500 Fast Dx Real-Time PCR Systems y Bio-Rad® CFX384™ Real-Time PCR Detection System)
- Puntas de pipeta con filtro resistentes a aerosoles (para volúmenes de 1–100 µL, 1–200 µL, 100–1000 µL, 1000–5000 µL)
- Placas PCR de 96 pocillos. Las dimensiones y el espacio entre los pocillos de las placas deben cumplir los estándares ANSI-SBS 1-2004 y 4-2004, y las placas deben tener certificados que garanticen que no contienen DNasa ni RNasa.
- Láminas adhesivas transparentes para placas de PCR de 96 pocillos
- Pipetas (para volúmenes de 1-100 µL, 1-200 µL, 100-1000 µL, 1000-5000 µL)
- Opcionalmente, pipeta multicanal (pipeta de 12 o bien de 8 canales para dispensar de 10 a 20 µL)
- Agitador Vortex
- Microcentrífuga para tubos de microcentrífuga de 1.5 mL
- Aplicador de láminas/películas adhesivas (por ejemplo, Thermo Fisher Scientific Inc., Hampton Research Corp. o Life Technologies Corporation)
- Centrífuga de placas para placas de PCR de 96 pocillos a 350 × g durante 1 min (por ejemplo, Labnet International, Inc.)

Revvity es una marca comercial de Revvity, Inc.

chemagic es una marca comercial de Revvity chemagen Technologie GmbH.

QuantStudio es una marca comercial de Thermo Fisher Scientific.

Jena es una marca registrada y qTOWER³ es una marca registrada de Analytik Jena AG.

Bio-Rad es una marca registrada y CFX es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc.

Applied Biosystems es una marca comercial de Thermo Fisher Scientific.

TOMA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Utilice solo hisopos de fibras sintéticas con cuerpos de plástico. No utilice hisopos de alginato de plástico ni hisopos con cuerpos de madera; pueden contener sustancias que inactiven algunos virus e inhiban el análisis por PCR. Coloque inmediatamente los hisopos en tubos estériles que contengan 3 mL de medio de transporte para virus. Se recomiendan muestras de hisopado nasofaríngeo.

El ARN purificado del SARS-CoV-2, los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS se utiliza como molde para la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa que se describe en el apartado «PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO». Conservar el ARN purificado a -70°C o menos.

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

CUIDADOS Y PRECAUCIONES

Para diagnóstico *in vitro*.

Este kit debe ser utilizado únicamente por personal cualificado.

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

Tratar todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.

El 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol, etoxilado, y el nonilfenol, etoxilado, se han añadido a la lista de sustancias sujetas a autorización (Anexo XIV) del Reglamento de sustancias y preparados químicos de la Unión Europea (REACH) puesto que se trata de disruptores endocrinos. El 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol, etoxilado, y el nonilfenol, etoxilado, no son sustancias peligrosas para los usuarios en la concentración proporcionada en el mix de enzimas, y su concentración en soluciones de desecho (mix de reacción PCR y mezcla de la reacción PCR) es considerablemente menor. Sin embargo, como la concentración segura de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol, etoxilado, y nonilfenol, etoxilado, para la liberación de aguas residuales no se ha determinado, todos los residuos líquidos y sólidos (reactivos sobrantes, viales o tubos vacíos, puntas de pipeta usadas, placas, etc.) que contengan 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol, etoxilado, y el nonilfenol, etoxilado, deben recogerse y eliminarse, por ejemplo, mediante incineración. No permita que el producto alcance las aguas subterráneas, las aguas superficiales o los sistemas de aguas residuales, ni siquiera en pequeñas cantidades.

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

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

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

Controles del proceso

El producto proporciona control negativo y control positivo para supervisar la fiabilidad de los resultados de todo el grupo de muestras. El control positivo incluye secuencias de ARN del SARS-CoV-2, los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS en partículas similar a virus (PSV).

Procedimiento del ensayo

Extracción de ácidos nucleicos

Descongele el **control positivo**. Saque del congelador el control positivo y colóquelo en el área de preparación para la extracción del ARN. Siga las instrucciones del manual de usuario del instrumento chemagic™ 360 y del kit CMG-1033-S para la configuración de la extracción de ácidos nucleicos o las instrucciones del fabricante para el método de extracción utilizado.

Instrucciones para el método de extracción de ácidos nucleicos **CMG-1033-S**: Debe añadirse una muestra de 300 µL a cada pocillo en la placa de muestras, seguido de 300 µL de tampón de lisis, 4 µL de ARN de Poly (A) y 10 µL de Proteinasa K. Añadir los reactivos en el orden secuencial. Se necesita un pocillo en la placa de muestras para cada muestra y el control positivo. Debe utilizarse el volumen de elución final de **60 µL**.

Instrucciones para los **demás** métodos de extracción de ácidos nucleicos: Debe reservarse un pocillo/tubo en la extracción de ARN para el control positivo. El volumen de elución final al final del proceso de extracción de ácidos nucleicos debe ser **60 µL**.

RT-PCR en tiempo real

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

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

1. **Descongele los reactivos** (primera área Pre-PCR). Saque el **reactivo A**, el **reactivo B1** y el **reactivo B2** del congelador, y colóquelos en el área de preparación de reactivos de la PCR. Mantenga el reactivo B1 y el reactivo B2 **protegidos de la luz**. Deje que los reactivos se descongelen durante 30 minutos permitiendo que alcancen la temperatura ambiente (de +19 a +25 °C) antes de usarlos. Si el ensayo se realiza con un instrumento sin el canal Cy®5.5, saque el **control negativo** del congelador y deje que se descongele durante 30 minutos hasta que alcance la temperatura ambiente (de +19 a +25 °) antes

de usarlo. El **control negativo** debe utilizarse como tampón de TE en el mix de reacción PCR. Mantenga el mix de enzimas en el congelador hasta que sea necesario usarlo en el paso 3 a continuación.

- Mezcle en el vortex los reactivos descongelados y después centrifugue a baja velocidad durante unos segundos para recoger el líquido en el fondo de los tubos.
- Saque el **mix de enzimas** del congelador. Descongele el mix de enzimas en hielo o a una temperatura de +2 a +8 °C hasta que haya vuelto a su estado líquido. El mix de enzimas no se congela a temperaturas de –30 a –16 °C pero puede gelificarse. Mezcle suavemente invirtiendo el vial 10 veces (evitar la formación de espuma y burbujas de aire) y centrifugue brevemente el vial para que el líquido se deposite.
- Prepare la mezcla de reactivos de PCR **en hielo** según la siguiente tabla. Los controles positivos y negativos deben incluirse en el número de muestras (n(muestras)). Se recomienda preparar un 110 % de la cantidad calculada de la mezcla de reactivos de PCR para tener en cuenta errores del pipeteo.

Mezcla de reactivos de PCR para los instrumentos con canales para FAM™, HEX™/VIC™, ROX™, Cy®5 y Cy®5.5/Quasar® 705 (detección del SARS-CoV-2, virus de la gripe A, virus de la gripe B, VRS y RNasa P):

Componente	Volumen/prueba	Volumen para n muestras y dos controles	110 % de volumen
Reactivo A	7.5 µL	7.5 x (n + 2) µL	8.25 x (n + 2) µL
Reactivo B1	1.25 µL	1.25 x (n + 2) µL	1.375 x (n + 2) µL
Reactivo B2	0.25 µL	0.25 x (n + 2) µL	0.275 x (n + 2) µL
Mix de enzimas	1 µL	1 x (n + 2) µL	1.1 x (n + 2) µL

Mezcla de reactivos de PCR para los instrumentos con canales para FAM™, HEX™/VIC™, ROX™ y Cy®5 (detección del SARS-CoV-2, virus de la gripe A, virus de la gripe B y RNasa P):

Componente	Volumen/prueba	Volumen para n muestras y dos controles	110 % de volumen
Reactivo A	7.5 µL	7.5 x (n + 2) µL	8.25 x (n + 2) µL
Reactivo B1	1.25 µL	1.25 x (n + 2) µL	1.375 x (n + 2) µL
Tampón de TE (Control negativo)	0.25 µL	0.25 x (n + 2) µL	0.275 x (n + 2) µL
Mix de enzimas	1 µL	1 x (n + 2) µL	1.1 x (n + 2) µL

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

5. Cierre el vial que contiene la mezcla de reactivos de PCR y mezcle suavemente invirtiendo el vial 10 veces (evitar la formación de espuma y burbujas de aire). **Coloque los reactivos del kit sin usar de nuevo en el congelador** a una temperatura de -30 a -16 °C. Mantenga la mezcla de reactivos en hielo y protegida de la luz y llévela a la segunda área pre-PCR.
6. **Descongele todas las muestras (incluido el control negativo proporcionado con el kit y el control positivo extraído).** Saque del congelador las **muestras de ARN** que van a analizarse y déjelas en la segunda área Pre-PCR.
7. Mezcle suavemente las muestras de ARN descongeladas invirtiendo el vial 10 veces y centrifugando brevemente para que el líquido se deposite en el fondo del vial.
8. Dispense 10 μ L de la mezcla de reactivos de PCR en cada pocillo de la placa de PCR.
9. Dispense 20 μ L del ácido nucleico extraído en cada pocillo que contenga mezcla de reactivos de PCR, y selle bien la placa de PCR usando una lámina adhesiva de PCR y un aplicador de láminas/películas. Mezcle en el vortex la mezcla durante 10 s y centrifugue la placa durante 1 min a $350 \times g$ y a una temperatura de $+19$ a $+25$ °C. Proceda al paso 10 sin demora. Transfiera los tubos o la placa de PCR al área de PCR.

Amplificación (en el área de PCR)

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

Paso	Temperatura	Tiempo	Número de ciclos
1	$+37$ °C	2 minutos	1
2	$+50$ °C	15 minutos	1
3	$+94$ °C	10 minutos	1
4	$+94$ °C	10 segundos	45
	$+55$ °C	15 segundos	
	$+65$ °C*	45 segundos	

* Detecta la señal de fluorescencia durante el último paso a $+65$ °C.

Establezca los canales de fluorescencia como se indica a continuación:

Nombre de la diana	Canal de detección
SARS-CoV-2	FAM™
Gripe A	ROX™
Gripe B	Cy®5
VRS	Cy®5.5 o Quasar® 705
RNasa P (control interno)	VIC™ o HEX™

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. Los laboratorios deben tener tres áreas de trabajo físicamente separadas [2]: la primera área Pre-PCR para la preparación de la mezcla de reactivos de PCR, la segunda área Pre-PCR para la adición del ARN, y el área Post-PCR para la amplificación y la detección de productos. Si no hay disponibles tres estancias de laboratorio separadas, las campanas o cabinas sin flujo ("dead air boxes") con luces ultravioleta pueden ofrecer una zona Pre-PCR limpia, y estas campanas se pueden situar en la misma estancia que el área Pre-PCR para la adición del ARN. La zona utilizada para la amplificación y la detección del producto debe estar separada de la(s) zona(s) Pre-PCR.
2. Para evitar la contaminación, los laboratorios deben implementar un flujo de trabajo que minimice los desplazamientos de lugares "sucios" a lugares "limpios" durante las tareas de PCR. Limpio se refiere a las zonas Pre-PCR sin producto de amplificación y donde se preparan las reacciones de amplificación. Las zonas sucias son aquellas zonas del laboratorio Post-PCR con productos de amplificación, donde se produce la amplificación y se utilizan métodos de detección posteriores a la PCR. Durante la limpieza periódica de las zonas de laboratorio, también se debe plantear el uso de un flujo de trabajo de "limpio" a "sucio".
3. La limpieza regular de las superficies de trabajo de las zonas de pipeteo con lejía diluida, enjuagar con agua estéril y secar es una forma eficaz de evitar la contaminación (utilizar lejía recién preparada al 10 %, es decir, aproximadamente un 0.5 % de hipoclorito de sodio). Además, el uso de luces ultravioletas colocadas sobre las superficies de trabajo puede ayudar a evitar la contaminación. Protégase de la luz ultravioleta siguiendo las instrucciones del fabricante del instrumento.
4. Cada área de trabajo debe tener pipetas, utensilios de plástico, rotuladores y materiales de vidrio específicos. Deben utilizarse puntas de pipeta con filtro resistentes a los aerosoles para pipetear los reactivos y preparar las reacciones de amplificación.
5. Cierre los viales de reactivo inmediatamente después de su uso para evitar la exposición innecesaria a posibles fuentes de contaminación.
6. Guarde las láminas adhesivas en su embalaje original y evite la exposición innecesaria a la luz antes de su uso.
7. Conserve las placas de PCR en sus envases originales antes de usarlas. Evite toda exposición innecesaria a posibles fuentes de contaminación.
8. No mezcle muestras de pacientes.
9. Antes y después de la incubación térmica, se recomienda asegurarse visualmente de que la placa se ha sellado correctamente. Si se despega la lámina adhesiva puede afectar a los resultados al provocar la evaporación y la contaminación cruzada de los pocillos.
10. Es necesario entender bien estas instrucciones y los manuales del instrumento de PCR en tiempo real para poder utilizar con éxito 3504-0010 PKamp Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit. Los reactivos suministrados con este kit están pensados para utilizarlos como una sola unidad. No use los reactivos de un kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del mismo.

11. La velocidad de centrifugación recomendada es de $350 \times g$. Tenga en cuenta que las revoluciones por minuto (rpm) pueden diferir de los valores de g según el rotor utilizado.
12. Cualquier desviación del procedimiento de ensayo puede afectar a los resultados.
13. Los laboratorios deben respetar las normativas locales y las buenas prácticas a la hora de eliminar las placas/tubos con las reacciones de amplificación que contienen las muestras para evitar la contaminación. La eliminación de la muestra del paciente debe cumplir las normativas locales y las políticas institucionales. **Nota: Después de completar el procedimiento de ensayo, las placas de reacción selladas deben desecharse sin abrirlas.** Las reacciones de amplificación selladas también pueden enviarse a un centro fuera del laboratorio para su eliminación o desecharse en bolsas de plástico selladas y esterilizables en autoclave con los demás desechos de laboratorio. Obtenga más información en «ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES».

CÁLCULO DE RESULTADOS

Después de completar el ensayo, guardar y analizar los datos siguiendo las instrucciones del instrumento. La mayoría de los instrumentos establecerán automáticamente los parámetros de fondo/línea de base y el nivel del umbral, que a menudo darán lugar a resultados aceptables. En algunos casos, el fondo/la línea de base y el umbral deben establecerse manualmente para obtener resultados óptimos. El fondo/la línea base normalmente comienza a partir de 3 a 5 ciclos y termina unos ciclos antes de que se produzca una amplificación de fluorescencia significativa. El nivel del umbral debe fijarse al comienzo de la fase exponencial de las curvas de amplificación y por encima de la señal de fondo, como la señal del control negativo.

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

Control de calidad

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

Control	Ciclo umbral (Ct)				
	SARS-CoV-2 (FAM™)	Gripe A (ROX™)	Gripe B (Cy®5)	VRS (Cy®5.5 / Quasar® 705)	RNasa P, Control interno (HEX™ / VIC™)
Negativo	Indeterminado o Ct >40		Indeterminado o Ct >40 (indeterminado o Ct >42 para el instrumento CFX96™*)		Indeterminado o Ct >35
Positivo	Ct ≤ 35				

* Umbral para CFX96™ Cy®5 > 300 RFU

Control negativo: **No deben** detectarse dianas víricas (*SARS-CoV-2*, *virus de la gripe A*, *virus de la gripe B* y *VRS*) o el valor de Ct debe ser >40 . Con el instrumento CFX96™, el valor de Ct debe ser >40 para el SARS-CoV-2 y los virus de la gripe A, y >42 para los virus de la gripe B y el VRS. El control interno (*RNasa P*) **no debe** detectarse o su Ct debe ser >35 .

Control positivo: todas las dianas (*SARS-CoV-2*, *virus de la gripe A*, *virus de la gripe B* y *VRS*) **deben** detectarse y sus valores de Ct deben ser ≤ 35 .

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

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

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

Diana	Valor de corte de Ct para una muestra clínica	
	Positivo	Negativo
SARS-CoV-2 (FAM™)	≤ 40	Indeterminado o Ct >40
Gripe A (ROX™)	≤ 40	Indeterminado o Ct >40
Gripe B (Cy®5)	≤ 40 (≤ 42 para el instrumento CFX96™*)	Indeterminado o Ct >40 (indeterminado o Ct >42 para el instrumento CFX96™*)
VRS (Cy®5.5 / Quasar® 705)	≤ 40 (≤ 42 para el instrumento CFX96™)	Indeterminado o Ct >40 (indeterminado o Ct >42 para el instrumento CFX96™)
RNasa P, control endógeno (HEX™ / VIC™)	Si alguna de las dianas víricas es positiva, no es necesario analizar RNasa P	≤ 35

* Umbral para CFX96™ Cy®5 > 300 RFU

Nota: Si el resultado para una muestra es «Negativo», el valor de Ct del control endógeno debe ser ≤ 35 ; de lo contrario, el resultado de esa muestra no es válido.

Si el resultado para una muestra es «Positivo», no es necesario que el valor de Ct del control endógeno se considere válido.

Si el valor de Ct del virus diana es de 37 a 40, se recomienda hacer un reanálisis repitiendo la extracción (si sobra una cantidad de muestra suficiente) o bien repitiendo la PCR. Si las dos pruebas son positivas, la muestra se notificará como positiva para el virus correspondiente. Si no, se notificará como no concluyente. En un paciente con resultados

no concluyentes deberá considerarse la obtención de una nueva muestra y su análisis subsiguiente.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Este kit se utiliza para la detección cualitativa de ARN del SARS-CoV-2, los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS a partir de ARN extraído de una muestra obtenida mediante hisopo nasofaríngeo en humanos. Los resultados no reflejan directamente la carga viral en las muestras originales.

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

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

Para la amplificación y detección de ácidos nucleicos de las dianas víricas SARS-CoV-2, virus de la gripe A, virus de la gripe B y VRS se recomiendan Thermo Fisher QuantStudio™ Dx, Analytik Jena® qTOWER³™ o Bio-Rad® CFX96™. Para la amplificación y detección de ácidos nucleicos de las dianas víricas SARS-CoV-2, virus de la gripe A y virus de la gripe B se recomienda Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR System y Bio-Rad® CFX384™. Otros instrumentos de amplificación de ácidos nucleicos deben verificarse antes de su uso.

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

A la hora de determinar el LD de este kit, se usó una concentración conocida de virus diana inactivados. Los resultados solo son aplicables a este kit, y las concentraciones definidas por otros métodos no son necesariamente equivalentes.

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

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

Los resultados negativos no descartan una infección vírica y no deben utilizarse como única base para tomar decisiones de tratamiento o de control en el paciente.

No se han evaluado los efectos de las vacunas, los tratamientos antivíricos, los antibióticos, los tratamientos quimioterápicos o los fármacos inmunosupresores en el rendimiento del ensayo. Los posibles interferentes analizados y resultados se enumeran en el apartado «Especificidad analítica - Reactividad cruzada y sustancias de interferencia».

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

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL ENSAYO

Precisión¹

La precisión intralaboratorio se determinó utilizando muestras de ARN y un lote del kit en dos series con cada instrumento. En cada serie se analizaron 10 replicados por muestra. La determinación de la variación total del ensayo incluyó dos lotes de reactivos y cuatro configuraciones de instrumento. Se realizaron 8 series con 3 replicados por muestra analizada en cada serie.

Precisión intralaboratorio para Thermo Fisher QuantStudio™ Dx 96 Real-Time PCR Instrument: al menos el 95 % de muestras negativas con un resultado negativo en el análisis y al menos el 95 % de muestras positivas con un resultado positivo en el análisis. El resumen estadístico se presenta en la tabla a continuación.

Nivel de muestra	Diana	Media (Ct)	Desv. est. (Ct)	CV% (Ct)	Coincidencia
LD	SARS-CoV-2	38.00	0.82	2.16	19/20
	Gripe A	37.75	0.50	1.34	20/20
	Gripe B	37.81	0.76	2.00	20/20
	VRS	37.17	1.11	2.99	20/20
3 × LD	SARS-CoV-2	36.15	0.34	0.95	20/20
	Gripe A	35.91	0.35	0.98	20/20
	Gripe B	36.04	0.40	1.12	20/20
	VRS	35.53	0.58	1.64	20/20
Negativo	RNasa P	25.67	0.19	0.74	25/25

¹ Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

Precisión intralaboratorio para Thermo Fisher QuantStudio™ Dx 384 Real-Time PCR Instrument: al menos el 95 % de muestras negativas con un resultado negativo en el análisis y al menos el 95 % de muestras positivas con un resultado positivo en el análisis. El resumen estadístico se presenta en la tabla a continuación.

Nivel de muestra	Diana	Media (Ct)	Desv. est. (Ct)	CV% (Ct)	Coincidencia
LD	SARS-CoV-2	38.49	0.81	2.09	19/20
	Gripe A	37.59	1.06	2.82	20/20
	Gripe B	37.10	0.74	1.99	20/20
	VRS	37.73	1.26	3.34	20/20
3 × LD	SARS-CoV-2	36.17	0.92	2.53	20/20
	Gripe A	36.04	0.48	1.34	20/20
	Gripe B	36.13	0.42	1.16	20/20
	VRS	36.40	1.21	3.32	20/20
Negativo	RNasa P	25.96	0.24	0.93	25/25

Precisión intralaboratorio para Applied Biosystems™ 7500 Standard Real-Time PCR System: más del 95 % de muestras negativas con un resultado negativo en el análisis y más del 95 % de muestras positivas con un resultado positivo en el análisis. El resumen estadístico se presenta en la tabla a continuación.

Nivel de muestra	Diana	Media (Ct)	Desv. est. (Ct)	CV% (Ct)	Coincidencia
LD	SARS-CoV-2	37.30	0.59	1.58	20/20
	Gripe A	38.20	0.48	1.25	20/20
	Gripe B	38.19	0.87	2.27	20/20
3 × LD	SARS-CoV-2	35.83	0.29	0.80	20/20
	Gripe A	36.80	0.36	0.99	20/20
	Gripe B	36.75	0.45	1.22	20/20
Negativo	RNasa P	26.12	0.32	1.23	20/20

Precisión intralaboratorio para Analytik Jena® qTOWER³™ 84 G Real-Time PCR Instrument: más del 95 % de muestras negativas con un resultado negativo en el análisis y más del 95 % de muestras positivas con un resultado positivo en el análisis. El resumen estadístico se presenta en la tabla a continuación.

Nivel de muestra	Diana	Media (Ct)	Desv. est. (Ct)	CV% (Ct)	Coincidencia
LD	SARS-CoV-2	37.92	0.95	2.49	20/20
	Gripe A	38.20	0.81	2.12	20/20
	Gripe B	37.09	0.61	1.65	20/20
	VRS	38.05	0.78	2.06	20/20
3 × LD	SARS-CoV-2	36.37	0.63	1.72	20/20
	Gripe A	36.60	0.44	1.19	20/20
	Gripe B	37.34	1.53	4.11	20/20
	VRS	36.58	0.66	1.80	20/20
Negativo	RNasa P	26.40	0.24	0.91	25/25

Precisión total: más del 95 % de muestras negativas con un resultado negativo en el análisis y más del 95 % de muestras positivas con un resultado positivo en el análisis. El resumen estadístico para los 4 instrumentos se presenta en la tabla a continuación.

Muestra	Diana	Copias genómicas de ARN/μL	N	Media (Ct)	DE (Ct)	CV% total	Resultados positivos
Neg	COVID	0	24	N/A	N/A	N/A	0/24
	Gripe A	0	24	N/A	N/A	N/A	0/24
	Gripe B	0	24	N/A	N/A	N/A	0/24
	VRS	0	18	N/A	N/A	N/A	0/24
	RPP30	430	24	25.93	0.47	1.82	24/24
1	COVID	6.0	23*	35.22	0.67	1.90	23/23
	Gripe A	6.0	23*	36.44	0.45	1.25	23/23
	Gripe B	1.5	23*	37.43	0.66	1.76	23/23
	VRS	1.5	17*	37.89	1.20	3.17	17/17
	RPP30	430	23*	25.77	0.42	1.61	23/23
2	COVID	12	24	34.11	0.63	1.84	24/24
	Gripe A	12	24	35.44	0.44	1.24	24/24
	Gripe B	3.0	24	36.31	0.90	2.47	24/24
	VRS	3.0	18	36.03	1.11	3.07	18/18
	RPP30	430	24	25.79	0.41	1.59	24/24

* Un replicado se excluyó del análisis por un error técnico.

Límites analíticos²

El límite de detección se determinó conforme al documento de CLSI EP17-A2 [3]. El límite de detección (LD) del ensayo se determinó a partir de 20 determinaciones de 4 o 5 muestras de bajo nivel. El LD para cada diana vírica (SARS-CoV-2, gripe A, gripe B y VRS) en la muestra después de la extracción se presenta en la tabla a continuación para cada instrumento analizado.

Instrumento	LD (copias/μL, ARN extraído)			
	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	VRS
Thermo Fisher QuantStudio™ Dx 96 Real-Time PCR Instrument	0.67	2.0	0.5	0.5
Thermo Fisher QuantStudio™ Dx 384 Real-Time PCR Instrument	0.67	2.0	0.5	0.5
Applied Biosystems™ 7500 Standard Real-Time PCR System	2.0	2.0	0.5	N/A
Analytik Jena® qTOWER ³ ™ 84 G Real-Time PCR Instrument	2.0	2.0	1.5	1.5

Especificidad analítica - Reactividad cruzada y sustancias de interferencia³

Los cebadores y sondas utilizados en el PKamp Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit son muy específicos. Para el SARS-CoV-2, de los 40 patógenos incluidos en el análisis informático de reactividad cruzada, solo el coronavirus causante del SARS (SARS-CoV) tuvo >80 % de homología con los cebadores y sondas utilizados para la detección del virus SARS-CoV-2. Para las otras dianas víricas en el análisis informático, el cebador inverso para los virus de la gripe B mostró un 85 % de homología con *Candida albicans*. Ninguno de los 40 patógenos analizados (incluido el coronavirus causante del SARS y *Candida albicans*) mostró reactividad cruzada *in vitro*.

La reactividad cruzada con tipos de virus de la gripe, tipos de coronavirus y VRS que no eran dianas se analizó con un panel de virus proporcionados por los CDC estadounidenses. Se obtuvo un resultado positivo con las dianas correspondientes, mientras que otras dianas se mantuvieron negativas.

² Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

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

Además, se analizó un panel de prueba de posibles sustancias de interferencia a niveles clínicamente relevantes según la norma EP07 del CLSI con ligeras modificaciones; la cantidad de sustancia de interferencia se mantuvo constante mientras que la concentración de la diana vírica se incrementaba si se observaba interferencia.

No se observó interferencia con las siguientes sustancias a la concentración analizada cuando en la muestra solo está presente una única diana vírica: oximetazolina al 15 % v/v, sangre al 0.5 % v/v, benzocaína, mentol 3.5 mg/mL, mentol 8 mg/mL, triamcinolona al 5 % v/v, clorhidrato de fenilefrina al 5 % v/v, solución salina (cloruro de sodio) al 15 % v/v, *Galphimia glauca*/*Luffa operculata*/*Sabadilla* al 5 % v/v, proteína mucina 60 µg/ml, mentol/timol/metilsalicilato/eucaliptol al 5 % v/v, tobramicina 4.0 µg/mL, zanamivir 3.3 mg/mL, oseltamivir 2.5 mg/mL, mupirocina 10 mg/mL y peramivir 45 ng/mL.

La fluticasona al 5 % v/v puede causar un resultado negativo falso para el VRS cuando la concentración de VRS en la muestra es inferior a $10 \times \text{LD}$. No se ha observado interferencia para los virus de la gripe A, los virus de la gripe B o el SARS-CoV-2. La budesonida al 1 % v/v (glucocorticoide) puede causar un resultado negativo falso para el SARS-CoV-2 y el VRS cuando sus concentraciones respectivas en la muestra son inferiores a $10 \times \text{LD}$. No se ha observado interferencia para los virus de la gripe A y de la gripe B.

Coinfección⁴

La posible interferencia por coinfección se analizó con muestras que contenían una concentración baja de $1 \times \text{LD}$ a $10 \times \text{LD}$ de una diana viral y una concentración alta (al menos 1000 veces más alta que el LD respectivo) de las otras 2 o 3 dianas víricas. Los resultados se presentan en la tabla a continuación.

Instrumento	Concentración analizada y resultado			
	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	VRS
Applied Biosystems™ 7500 Standard Real-Time PCR System*	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	N/A
Applied Biosystems™ 7500 Fast Dx 96 Real-Time PCR System*	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	N/A

⁴ Estudio realizado en Suzhou SYM-BIO LifeScience Co., Ltd., Taicang, China, y en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

Instrumento	Concentración analizada y resultado			
	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	VRS
Thermo Fisher QuantStudio™ Dx 96 Real-Time PCR Instrument**	Ninguna interferencia de otras dianas a $9 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $10 \times \text{LD}$ La coinfección por el SARS-CoV-2, virus de la gripe A y el VRS puede causar un resultado negativo falso cuando un virus de la gripe B está presente por debajo de $10 \times \text{LD}$.	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$
Thermo Fisher QuantStudio™ Dx 384 Real-Time PCR Instrument**	Ninguna interferencia de otras dianas a $9 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $10 \times \text{LD}$ La coinfección por el SARS-CoV-2, virus de la gripe A y virus de la gripe B puede causar un resultado negativo falso cuando el VRS está presente por debajo de $10 \times \text{LD}$.
Analytik Jena® qTOWER ³ ™ 84 G Real-Time PCR Instrument**	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas al LD	Ninguna interferencia de otras dianas al LD
Bio-Rad® CFX96™ Real-Time PCR Detection System*	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$
Bio-Rad® CFX384™ Real-Time PCR Detection System*	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	Ninguna interferencia de otras dianas a $3 \times \text{LD}$	N/A

N/A: No aplicable

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

** Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

Inclusividad⁵

El diseño de cebadores/sondas en este kit para los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS es similar al diseño de los CDC estadounidenses, con la adición de oligonucleótidos degenerados para mejorar la inclusividad. Para determinar la inclusividad del PKamp Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit se estudiaron diferentes cepas de los virus de la gripe A, los virus de la gripe B y el VRS que representaban una diversidad temporal, geográfica y genética dentro del subtipo y estirpe de la diana vírica. Todas las muestras fueron positivas para la diana vírica analizada respectiva y negativas para las demás dianas. El kit puede detectar múltiples cepas clínicamente relevantes de virus de la gripe A, virus de la gripe B y el VRS, incluidas las cepas del 2020 CDC Human Influenza Virus Panel.

La detección del SARS-CoV-2 se basa en el gen N u ORF1ab: los cebadores y sondas para el gen ORF1ab, el cebador inverso y la sonda para el gen N han demostrado una coincidencia perfecta para más del 98 % de las secuencias de las bases de datos del NCBI y GISAID. Para el cebador directo del gen N se identificaron variantes en 5' en alrededor del 30 % de las secuencias de bases de datos. Sin embargo, tiene menos impacto en la T_m, lo que afectaría a la eficiencia de unión del cebador. Por lo tanto, como la detección del SARS-CoV-2 se basa en los genes N u ORF1ab, el virus diana se detecta siempre que uno de los genes (N, ORF1ab) se amplifique/detecte. Por lo tanto, las variaciones de secuencia identificadas tienen menos impacto en la inclusión del SARS-CoV-2.

Comparación de los métodos⁶

El 3504-0010 PKamp Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit se comparó con el PKamp Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel de Revvity (n.º de prod. SDX-56392/SDX-56393). Cinco muestras positivas en 10 replicados/muestra (total de 50 replicados positivos) y dos muestras negativas en 25 replicados/muestra (total de 50 replicados negativos) se analizaron con cada ensayo en tres instrumentos. Las muestras positivas contenían de 1000 a 1 000 000 copias/mL cada genoma de la diana. Las muestras negativas contenían de 5000 a aprox. 100 000 copias/mL del gen RNasa P. La tasa de resultados positivos y negativos para ambos ensayos frente al estado de la muestra conocido se presenta en la tabla a continuación con los intervalos de confianza del 95 % entre paréntesis.

⁵ Estudio realizado en Suzhou SYM-BIO LifeScience Co., Ltd., Taicang, China.

⁶ Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

Instrumento	Producto	Tasa de resultados positivos			
		SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	VRS
Todos los instrumentos combinados	3504-0010/-001B	100 % (98.0–100 %)	96.7 % (92.4–98.9 %)	100 % (98.0–100 %)	100 % (98.0–100 %)
	SDX-56392/-56393	99.3 % (96.3–100 %)	96.7 % (92.4–98.9 %)	99.3 % (96.3–100 %)	99.3 % (96.3–100 %)
Instrumento	Producto	Tasa de resultados negativos			
		SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	VRS
Todos los instrumentos combinados	3504-0010/-001B	100 % (98.0–100 %)	100 % (98.0–100 %)	100 % (98.0–100 %)	99.3 % (96.3–100 %)
	SDX-56392/-56393	100 % (98.0–100 %)	100 % (98.0–100 %)	100 % (98.0–100 %)	100 % (98.0–100 %)

Rendimiento clínico⁷

En total, se utilizaron 370 muestras residuales de hisopos nasofaríngeos (HNF) de pacientes con sospecha de infección vírica para evaluar el rendimiento del PKamp Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel de Revvity. Los resultados de las muestras para el SARS-CoV-2, virus de la gripe A, virus de la gripe B y el VRS se habían obtenido con anterioridad con el método autorizado de la FDA estadounidense. La comparación con estos resultados se presenta en la tabla a continuación. En conclusión, la gripe B y el VRS mostraron valores de PPA y NPA del 100 %; la gripe A, valores de PPA >90 % y de NPA del 100 %; y el SARS-CoV-2, valores de PPA y NPA >95 %.

⁷ Estudio realizado para Suzhou SYM-BIO LifeScience Co., Ltd., Taicang, China.

Virus	Número de muestras	Resultados de la prueba				Estadístico de concordancia		
		Positivo concorde (N)	Positivo disconcorde (N)	Negativo concorde (N)	Negativo disconcorde (N)	Parámetro de concordancia	Porcentaje de concordancia (%)	IC del 95 % LCL, UCL
SARS-CoV-2	156	79	4	70	3	PPA	95.2 %	88.3 %, 98.1 %
						NPA	95.9 %	88.6 %, 98.6 %
Gripe A	125	53	5	67	0	PPA	91.4 %	81.4 %, 96.3 %
						NPA	100 %	94.6 %, 100 %
Gripe B	101	34	0	67	0	PPA	100 %	89.9 %, 100 %
						NPA	100 %	94.6 %, 100 %
VRS	114	55	0	59	0	PPA	100 %	93.5 %, 100 %
						NPA	100 %	94.0 %, 100 %
Total		221	9	263	3			

PPA: concordancia predictiva positiva; NPA: concordancia predictiva negativa; LCL: límite inferior de confianza; UCL: límite superior de confianza

GARANTÍA

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

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

REFERENCIAS

- [1] China CDC Virus Disease Control and Prevention. Novel coronavirus nucleic acid detection primer and probe sequences (Specific Primers and Probes for Detection Novel coronavirus 2019) [EB / OL]., 2020-01-21.
- [2] Health Protection Agency. Good Laboratory Practice when Performing Molecular Amplification Assays. National Standard Method QSOP. 2018; Q 4, Issue no: 5.
- [3] CLSI (2012): Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute

Última revisión 10 de mayo de 2023

Kit de panel de RT-PCR respiratoria SARS-CoV-2 PKamp™ 3504-0010

Kit de panel de RT-PCR respiratoria SARS-CoV-2 PKamp™ 3504-001B

Etiquetado de dispositivos

Etiquetado del contenedor exterior

1 Etiqueta del kit

La información específica del lote se imprime durante el proceso de embalaje.

- Numero de lote
- Fecha de caducidad (AAAA-MM-DD)
- Número de embalaje
- Versión de inserción del kit
- Código de identificador de dispositivo único (UDI)

Dimensión de la etiqueta 80 x 35 mm (artículo n.º 3504-0010-500)

PKamp™ Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit			
Reagent A, 950 µL, 1 vial	IVD	CE	REF 3504-0010
Enzyme Mix, 170 µL, 1 vial	Σ 96	-30 °C	-16 °C
Reagent B1, 200 µL, 1 vial			
Reagent B2, 40 µL, 1 vial			
Positive Control, 1.4 mL, 1 vial	Reg MS (Brasil): 10298910168		
Negative Control, 1.4 mL, 2 vials	Resp. Técnica: Silvia Claudia A. Bello, CRF-SP 15578		
2000-00-00	LOT	Kit insert version:	
Wallac Oy, Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finland		PN	Pack no:
		(01)06438147382200 (17)000000 (10)	
		Made in Finland	

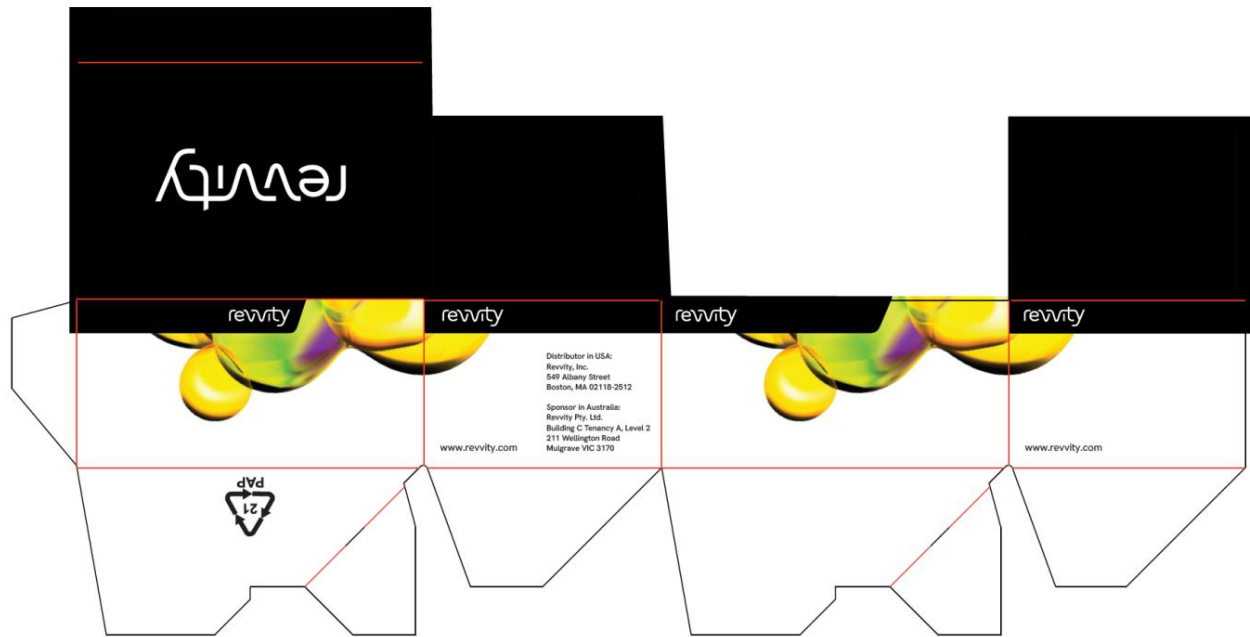
Dimensión de la etiqueta 80 x 35 mm (artículo n.º 5304-001B-500)

PKamp™ Respiratory SARS-CoV-2 RT-PCR Panel kit			
Reagent A, 950 µL, 2 vials	IVD	CE	REF 3504-001B
Enzyme Mix, 170 µL, 2 vials	Σ 384	-30 °C	-16 °C
Reagent B1, 200 µL, 2 vials			
Reagent B2, 40 µL, 2 vials			
Positive Control, 1.4 mL, 2 vials	Reg MS (Brasil): 10298910168		
Negative Control, 1.4 mL, 4 vials	Resp. Técnica: Silvia Claudia A. Bello, CRF-SP 15578		
2000-00-00	LOT	Kit insert version:	
Wallac Oy, Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finland		PN	Pack no:
		(01)06438147382224 (17)000000 (10)	
		Made in Finland	

2 Paquete de dispositivo

Se utiliza el mismo paquete de dispositivo para 3504-0010 y 3504-001B.

108 x 76 x 52 mm (N.º de artículo 11550510)



La siguiente información del distribuidor está preimpresa en el paquete del kit:

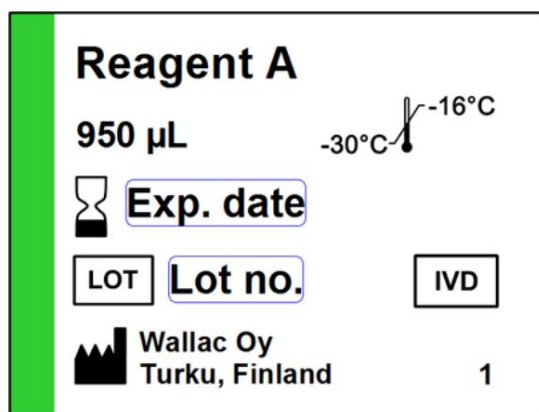
Distributor in USA:
Revvity, Inc.
549 Albany Street
Boston, MA 02118-2512

Sponsor in Australia:
Revvity Pty. Ltd.
Building C Tenancy A, Level 2
211 Wellington Road
Mulgrave VIC 3170

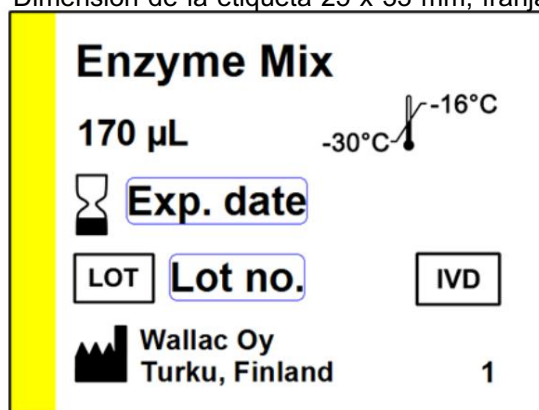
Etiquetas de contenedores inmediatas

La información específica del lote (número de lote y fecha de vencimiento) se imprime durante el proceso de fabricación.

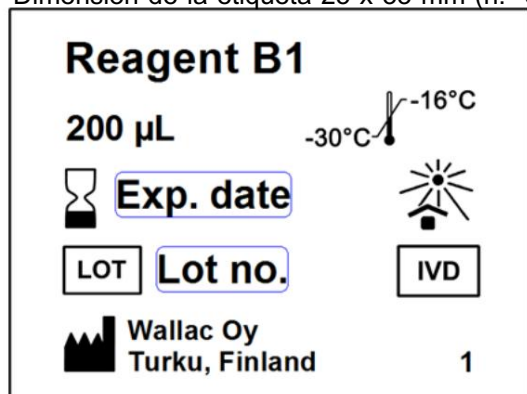
Dimensión de la etiqueta 25 x 33 mm, franja verde (n.º de artículo 13409337)



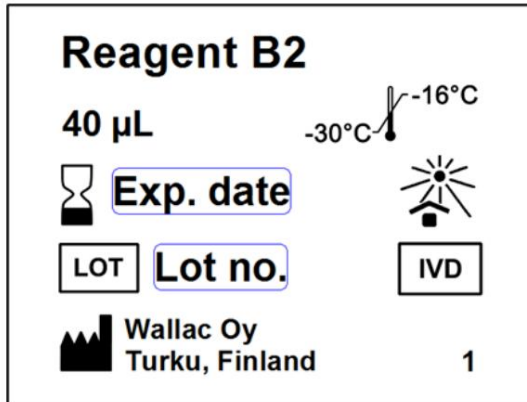
Dimensión de la etiqueta 25 x 33 mm, franja amarilla (n.º de artículo 13409338)



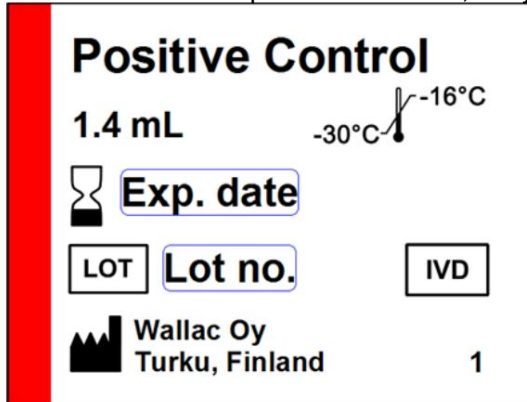
Dimensión de la etiqueta 25 x 33 mm (n.º de artículo 13409339)



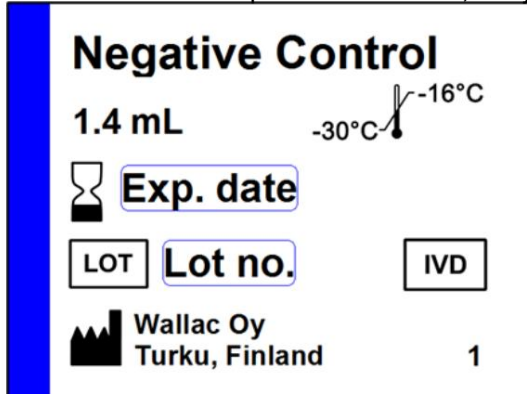
Dimensión de la etiqueta 25 x 33 mm (n.º de artículo 13409342)



Dimensión de la etiqueta 25 x 33 mm, franja roja (n.º de artículo 13409340)



Dimensión de la etiqueta 25 x 33 mm, franja azul (n.º de artículo 13409341)



Los números de artículo (Nº de artículo) entre paréntesis se muestran para la trazabilidad dentro de la empresa. La información presentada aquí es confidencial y puede usarse únicamente con fines regulatorios.