



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.

3515-0010

SARS-CoV-2 Plus (N/ORF1ab/E/S 69_70del) RT-qPCR Reagent 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
Teléfono: +358 2 2678 111

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.
	Reciclable	RESY Organization für Wertstoffentsorgung GmbH	No aplicable

SARS-CoV-2 Plus (N/ORF1ab/E/S 69_70del) RT-qPCR Reagent kit

FINALIDAD DEL KIT

El kit está destinado a la detección cualitativa del SARS-CoV-2 (coronavirus tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo severo) en el ARN extraído de muestras obtenidas mediante frotis orofaríngeo y frotis nasofaríngeo de humanos y para la identificación simultánea del SARS-CoV-2 con delección de Spike H69_V70 (asociada a la B.1.1.7 conocida como la “variante del Reino Unido” o variante “Alpha”). La finalidad de este kit es ayudar al diagnóstico de pacientes con sospecha de COVID-19 (enfermedad por coronavirus) y debe ser utilizado por personal de laboratorio clínico formado en técnicas de RT-qPCR con un instrumento de qPCR. Es necesario establecer una correlación clínica con los antecedentes del paciente y otra información diagnóstica para determinar el estado de infección del paciente.

ANTECEDENTES

El ARN del SARS-CoV-2 se detecta normalmente en muestras humanas obtenidas mediante frotis orofaríngeo y nasofaríngeo durante la fase aguda de la infección vírica del SARS-CoV-2 [1]. Los resultados positivos son indicativos de la presencia de ARN del SARS-CoV-2. Sin embargo, los resultados positivos no descartan una infección bacteriana o una coinfección por otros virus. El ensayo es una prueba multiplex de SARS-CoV-2 utilizada para la detección cualitativa simultánea del virus SARS-CoV2, así como para la diferenciación, de la variante del Reino Unido del SARS-CoV-2 (mutación del gen Spike 69_70del) del virus de tipo salvaje. Los resultados negativos no excluyen la infección por el SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como única base para tomar decisiones terapéuticas en el paciente. Los resultados negativos deben combinarse con las observaciones clínicas, los antecedentes del paciente y la información epidemiológica.

PRINCIPIOS DEL ENSAYO

El kit de reactivo 3515-0010 SARS-CoV-2 Plus (N/ORF1ab/E/S 69_70del) RT-qPCR utiliza una técnica RT-qPCR basada en TaqMan™ para realizar la transcripción *in vitro* del ARN del SARS-CoV-2, la amplificación del ADN y la detección de fluorescencia. El ensayo es una prueba multiplex de SARS-CoV-2 utilizada para la detección cualitativa simultánea del virus SARS-CoV-2, así como para la diferenciación de la variante del Reino Unido del SARS-CoV-2 (mutación 69_70del en el gen Spike). El ensayo contiene cebadores y sondas para el gen de la nucleocápside del SARS-CoV-2 (gen N), el gen de la envoltura (gen E) y el gen del marco de lectura abierto 1ab (gen ORF1ab), así como el gen humano RPP30, que se utiliza como control interno para supervisar los procesos desde la extracción del ácido nucleico hasta la detección por fluorescencia. La detección cualitativa multiplex se basa en la detección de los siguientes fluorocromos: Gen N (FAM™), Gen E (FAM™), es decir, mutación 69_70 del gen Spike (ROX™) variante del Reino Unido, ORF1ab

(HEX™/VIC™) y RPP30 (Cy®5). Este ensayo está destinado únicamente al diagnóstico *in vitro* (IVD).

CONTENIDO DEL KIT

Cada 3515-0010 SARS-CoV-2 Plus (N/ORF1ab/E/S 69_70del) RT-qPCR Reagent kit contiene reactivos para 96 reacciones que pueden utilizarse en un máximo de cuatro series separadas.

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

Reactivos

Componente	Cantidad	Almacenamiento y caducidad
CoV2 Reagent C (Reactivo C CoV2)	1 vial, 120 µL	De -30 a -16 °C protegido de la luz hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Tampones, cebadores, sondas		
CoV2 Enzyme Mix NR4 (Mezcla de enzimas NR4 CoV2)	1 vial, 600 µL	De -30 a -16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
ADN polimerasa resistente a inhibidores, transcriptasa reversa MMLV, dNTP, inhibidor de la RNasa.		
CoV2 Positive Control 4 (Control positivo 4 de CoV2)	1 vial, 1400 µL	De -30 a -16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Fragmentos de ARN del SARS-CoV-2 en VLP y plásmidos		

CoV2 Negative Control 4 (Control negativo 4 de CoV2)	1 vial, 1000 µL	De -30 a -16 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.
Agua libre de nucleasas		
Lot-specific quality control certificate (Certificado de control de calidad específico del lote)	1 unidad	

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT

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

1. Extracción del ARN: Se recomienda utilizar kits de extracción de ácidos nucleicos de Revvity (por ejemplo, CMG-1033-S, CMG-1033-S T) con el instrumento y el software chemagic™ 360. Puede utilizarse otro sistema equivalente de extracción de ARN.
2. Cuando se utilice con el instrumento de PCR en tiempo real Analytik Jena® qTOWER³ 84, póngase en contacto con el representante de Revvity, que le proporcionará instrucciones sobre el modo de emplear el archivo modificado de compensación de color para garantizar el mejor rendimiento.

Además, se necesita lo siguiente:

- RT-qPCR rápida: Instrumentos con capacidad de cambio de temperatura y ciclo rápido, y con canales FAM™, HEX™/VIC™, ROX™ y Cy®5 (p. ej. Thermo Fisher QuantStudio™, Bio-Rad® CFX™ 96 Real Time System, Analytik Jena® qTOWER³ 84)
- Puntas de pipeta con filtro resistentes a aerosoles (para volúmenes de 1–100 µL, 1–200 µL, 100–1000 µL, 1000–5000 µL)
- Placas de PCR de 96/384 pocillos recomendadas para el instrumento utilizado. Las dimensiones y el espacio entre los pocillos de las placas deben cumplir los estándares ANSI-SBS 1-2004 y 4-2004, y las placas deben tener certificados que garanticen que no contienen DNasa, RNasa ni ADN humano.
- Láminas adhesivas transparentes para placas de PCR de 96/384 pocillos.
- Pipetas (para volúmenes de 1-100 µL, 1-200 µL, 100-1000 µL, 1000-5000 µL)
- Opcional: pipeta multicanal (pipeta de 12 o bien de 8 canales)
- 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)

chemagic es una marca comercial de Revvity chemagen Technologie GmbH.

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

QuantStudio es una marca comercial de Thermo Fisher Scientific.

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

- Centrífuga de placas para placas de PCR de 96/384 pocillos a 800 × *g* durante 2 min (por ejemplo, Labnet International, Inc.).
- Placa espaciadora de silicona o almohadilla de compresión para placa de 96/384 pocillos si el instrumento utilizado lo requiere

TOMA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

La muestra debe recogerla personal debidamente formado siguiendo las instrucciones del kit de recogida de muestras.

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

Para la extracción de ARN, se recomienda utilizar kits de extracción de ácidos nucleicos Revvity (por ejemplo, CMG-1033-S, CMG-1033-S T) con el sistema chemagic™ 360 o un método equivalente de extracción de ARN. Los kits de extracción de ARN debe utilizarlos personal debidamente formado siguiendo las instrucciones del prospecto del kit.

CUIDADOS Y PRECAUCIONES

Para diagnóstico *in vitro*.

Este kit debe ser utilizado únicamente por personal cualificado.

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

Tratar todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.

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

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

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

Controles del proceso

El kit proporciona un control negativo, control positivo y cebadores y sondas para el control interno RPP30 (CI, incluido en el reactivo C) para supervisar la fiabilidad de los resultados de todo el grupo de muestras analizado, desde la extracción de la muestra hasta la amplificación por PCR.

Extracción de ácidos nucleicos

Descongele el **control positivo 4 de CoV2**. Saque del congelador el control positivo 4 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/CMG-1033-S T** 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/CMG-1033-S T: 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 un pocillo para el **control positivo 4 de CoV2**. **Vuelva a introducir los controles positivos 4 de CoV2 sin usar en el congelador** (de -30 a -16 °C). Debe utilizarse el volumen de elución final de **70 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 4 de CoV2**. **Vuelva a introducir los controles positivos 4 de CoV2 sin usar en el congelador** (de -30 a -16 °C). El volumen de elución final al final del proceso de extracción de ácidos nucleicos debe ser **70 µL**.

RT-PCR en tiempo real

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 C CoV2** del congelador y colóquelo en el área de preparación de la PCR. Deje que el reactivo se descongele durante 30 minutos a temperatura ambiente (de +19 a +25 °C) antes de usarlo. Mantenga el **reactivo C CoV2 protegido de la luz**. Descongele el **NR4 de la mezcla de enzimas CoV2** en hielo o a una temperatura de +2 a +8 °C hasta que haya vuelto a su estado líquido. Mantenga el **NR4 de la mezcla de enzimas CoV2** en hielo/frigorífico hasta que se necesite.
2. **Descongele el control negativo 4 de CoV2 y todas las muestras de ARN**. Saque del congelador el **control negativo 4 de CoV2** y las **muestras de ARN** que van a analizarse y déjelas en la segunda área Pre-PCR. Coloque también el **control positivo de CoV2 4** extraído en la segunda área Pre-PCR.
3. Mezcle en el vórtex el **Reactivo C CoV2** (primera área Pre-PCR). Mezcle suavemente el **NR4 de la mezcla de enzimas CoV2** invirtiendo el vial 10 veces (evite que se formen espuma y burbujas de aire). Centrifugue a baja velocidad durante unos segundos para recoger el líquido en el fondo de los tubos.
4. Prepare la mezcla de reactivos de PCR **en hielo** según la siguiente tabla (primera área Pre-PCR). Los controles positivos y negativos deben incluirse en el número de muestras (n(muestras)).

Componente	Volumen
Reactivo C CoV2	1 µL/prueba × n (muestras)
Mezcla de enzimas NR4 CoV2	5 µL/prueba × n (muestras)
Total	6 µL/prueba × n (muestras)

Nota: Proceda 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). Centrifugue a baja velocidad durante unos segundos para recoger el líquido en el fondo del tubo. **Coloque los reactivos del kit sin usar (reactivo C CoV2 y mezcla de enzimas CoV2 NR4) 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. En la segunda área Pre-PCR, mezcle suavemente las muestras de ARN descongeladas, el **control positivo de CoV2 4** y el **control negativo de CoV2 4**.
7. Dispense 6 µL de la mezcla de reactivos de PCR en cada tubo de PCR/cada pocillo de la placa de PCR.
8. Dispense 14 µL del ácido nucleico extraído en cada tubo o pocillo que contenga mezcla de PCR. Añada 14 µL de **control positivo 4 de CoV2** extraído en un tubo o pocillo y **control negativo 4 de CoV2** en un tubo o pocillo que contenga la mezcla de PCR. El control positivo 4 extraído debe desecharse después de su uso. **Vuelva a introducir los controles negativos CoV2 sin usar en el congelador** (de -30 a -16 °C). Si se usan tubos, cierre las tapas de los tubos, mezcle en el vórtex los tubos cuidadosamente y centrifugue los tubos durante 2 minutos a 800 × g de +19 a +25 °C para eliminar las burbujas. Si se usan placas de PCR, mezcle cada pocillo de la placa de PCR pipeteando con cuidado hacia arriba y hacia abajo al menos cinco veces, selle bien la placa de PCR usando una lámina adhesiva transparente de PCR y un aplicador de láminas/películas y centrifugue la placa durante 2 minutos a 800 × g a +19–+25 °C. Transfiera los tubos o la placa de PCR al área de PCR y vaya inmediatamente al paso 9.

Amplificación (en el área de PCR)

9. Coloque los tubos de PCR/placa de PCR del paso previo en un termociclador de PCR en tiempo real.
10. 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	+50 °C	15 minutos	1
2	+95 °C	2 minutos	1
3	+95 °C	10 segundos	45
	+64 °C *	30 segundos	

* Detecta la señal de fluorescencia durante el último paso a +64 °C.

Establezca los canales de fluorescencia como se indica a continuación:

Analito	Control interno (CI) RPP30	Gen N/ Gen E	Gen ORF1ab	S 69_70del (variante del Reino Unido)
Canal de detección	Cy [®] 5	FAM [™]	VIC [™] o HEX [™]	ROX [™]

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. Antes y después de la incubación térmica, se recomienda asegurarse visualmente de que la placa se ha sellado correctamente. Si se despega la lámina adhesiva puede afectar a los resultados al provocar la evaporación y la contaminación cruzada de los pocillos.
9. Es necesario entender bien estas instrucciones y los manuales del instrumento de PCR en tiempo real para utilizar correctamente 3515-0010 SARS-CoV-2 Plus (N/ORF1ab/E/S 69_70del) RT-qPCR Reagent kit. Los reactivos suministrados con este kit están pensados para utilizarlos como una sola unidad. No use los reactivos de un kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del mismo.
10. La velocidad de centrifugación recomendada es de $800 \times g$. Tenga en cuenta que las revoluciones por minuto (rpm) pueden diferir de los valores de g según el rotor utilizado.
11. Cualquier desviación del procedimiento de ensayo puede afectar a los resultados.
12. Los laboratorios deben respetar las normativas locales y las 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.

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 interpretar los resultados de las muestras, deben examinarse los resultados de las pruebas del **control positivo 4 de CoV2** y el **control negativo 4 de CoV2**. Estos dos controles deben cumplir los requisitos enumerados en la tabla siguiente para garantizar resultados válidos. Si los controles no son válidos, no es posible interpretar los resultados de la muestra.

Control	Ct			
	Gen N/Gen E (FAM™)	Gen ORF1ab (HEX™/VIC™)	S 69_70del (ROX™)	RPP30, control interno (Cy®5)
Control negativo 4 de CoV2	Indeterminado o Ct ≥40.0	Indeterminado o Ct ≥40.0	Indeterminado o Ct ≥40.0	Indeterminado o Ct ≥40.0
Control positivo 4 de CoV2	Ct ≤35.0	Ct ≤35.0	Ct ≤35.0	Ct <40.0

Control negativo 4 de CoV2: La señal de *ORF1ab*, *N/E*, *S 69_70 del* y de control interno *RPP30* **no deben** detectarse o su Ct debe ser ≥40.0.

Control positivo 4 de CoV2: La señal de *ORF1ab*, *N/E*, *S 69_70 del* y de control interno *RPP30* **deben** detectarse con los criterios de aceptación incluidos en la tabla anterior.

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 Ct para los diferentes genes diana que se presentan a continuación se derivan de estudios de verificación y validación del producto. Los usuarios deben determinar sus propios valores de corte de Ct para un rendimiento óptimo.

Ct			Interpretación de los resultados
Control interno RPP30 (Cy®5)	N/E (FAM™), ORF1ab (HEX™/VIC™)	S 69_70del (ROX™)	
<40.0	Ambas dianas indeterminadas o ≥40.0	Indeterminado o ≥40.0	SARS-CoV-2 no detectado
No hay requisitos sobre el valor de Ct	Una o ambas dianas <40.0	Indeterminado o ≥40.0	SARS-CoV-2 detectado sin delección de Spike H69_V70*
No hay requisitos sobre el valor de Ct	Una o ambas dianas <40.0	<40.0	SARS-CoV-2 detectado con delección de Spike H69_V70
No hay requisitos sobre el valor de Ct	Ambas dianas indeterminadas o ≥40.0	<40.0	Resultado poco claro**
indeterminado o ≥40.0	Ambas dianas indeterminadas o ≥40.0	Indeterminado o ≥40.0	Resultado no válido, es necesario volver a analizar la muestra volviéndola a extraer o volviéndola a recoger del paciente para hacer la prueba.

* En el caso de que una de las dianas del SARS-CoV-2 (N/E, ORF1ab o S 69_70del) sea positiva y las demás dianas sean negativas, el resultado es indicativo de una muestra con concentraciones cercanas o inferiores al límite de detección de la prueba. La muestra puede volver a analizarse volviéndola a extraer.

** La muestra debe volver a analizarse extrayéndola de nuevo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

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

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

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

Se recomiendan Thermo Fisher QuantStudio™, Bio-Rad® CFX™ 96 Touch y Analytik Jena® qTOWER³ 84 para la amplificación de ácidos nucleicos. Otros instrumentos de amplificación de ácidos nucleicos deben verificarse antes de su uso.

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

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

Los cebadores y las sondas para las secuencias N, E y ORF1ab de este kit se dirigen a regiones altamente conservadas dentro del genoma del SARS-CoV-2. Las mutaciones que se produzcan en estas regiones altamente conservadas, aunque son raras, pueden hacer que el ARN sea indetectable.

Los cebadores y las sondas dirigidas a la delección de Spike H69_V70 están diseñados para identificar una delección de nucleótidos específica: delTACATG.

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

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

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

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL ENSAYO

Precisión

La reproducibilidad del ensayo se determinó con una muestra negativa y dos muestras positivas en el LD y el LD × 5. Se realizaron cuatro series con cada uno de los tres instrumentos recomendados, utilizando dos lotes del kit en cada serie. Se analizaron 5 réplicas de cada muestra por cada lote del kit. El 100 % de las muestras negativas fueron analizadas como negativas, y el 100 % de las muestras positivas en o por encima del LD fueron analizadas como positivas.

Límites analíticos

El límite de detección (LD) del ensayo se determinó según la directriz EP17-A2 del CLSI basándose en los resultados de 3 muestras de bajo nivel. Se determinó que el LD para cada diana de SARS-CoV-2 con cada instrumento de qPCR recomendado era de 20 copias/reacción.

Especificidad analítica - Reactividad cruzada

Se realizó un análisis de reactividad cruzada *in silico* contra los patógenos recomendado por la OMS (organismos de alta prioridad) [3]. El estudio demostró que los cebadores y las sondas son altamente específicos.

La única diana que demostró una homología de secuencia superior al 80 % con ambos cebadores y la sonda fue el gen E, que tenía un 100 % de homología con la secuencia de ARN del coronavirus del SARS. De los otros 27 patógenos incluidos en el análisis, 4 patógenos tenían una homología superior al 80 % (80-83 %) para un único cebador N utilizado para detectar el virus del SARS-CoV-2. Esta homología con un único cebador no dará lugar a la amplificación/detección de ninguno de estos otros patógenos.

El panel de pruebas de reactividad cruzada se muestra a continuación:

Patógeno	Cepa	GenBank Acc#
Coronavirus humano 229E	229E	NC_002645.1
Coronavirus humano OC43	ATCC VR-759	NC_006213.1
Coronavirus humano HKU1	HCoV-HKU1	NC_006577.2
Coronavirus humano NL63	NL63	NC_005831.2
Coronavirus del SARS	Ninguno incluido en la lista	NC_004718.3
Coronavirus del MERS	NL140455	MG987421.1
Adenovirus (p. ej. C1 Ad. 71)	tipo 2	J01917.1
Metapneumovirus humano (hMPV)	CAN97-83	NC_039199.1
Virus parainfluenza 1 (respirovirus humano 1)	HPIV1/Los_Angeles/USA/CHLA36/2016	MK167043.1
Virus parainfluenza 2 (rubulavirus humano 2)	HPIV2/Seattle/USA/SC9949/2018	MN369034.1
Virus parainfluenza 3 (respirovirus humano 3)	NIV1721711	MH330335.1
Virus parainfluenza 4a (rubulavirus humano 4a)	4a M-25	NC_021928.1
Gripe A	Nueva York/392/2004(H3N2)	NC_007373.1, NC_007372.1, NC_007371.1, NC_007366.1, NC_007369.1, NC_007368.1, NC_007367.1, NC_007370.1

Patógeno	Cepa	GenBank Acc#
Gripe B	B/Lee/1940	NC_002205.1, NC_002206.1, NC_002207.1, NC_002208.1, NC_002209.1, NC_002210.1, NC_002211.1, NC_002204.1
Enterovirus (p. ej. EV68)	Virus Coxsackie B1	NC_001472.1
Virus respiratorio sincitial	RSS-2	NC_001803.1
Rinovirus	1 cepa de ATCC VR-1559	NC_038311.1
<i>Chlamydia pneumonia</i>	CWL029	NC_000922.1
<i>Haemophilus influenzae</i>	Rd KW20	NC_000907.1
<i>Legionella pneumophila</i>	Philadelphia 1	NC_002942.5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	H37Rv	NC_000962.3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	R6	NC_003098.1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	M1 GAS	NC_002737.2
<i>Bordetella pertussis</i>	Tohama I	NC_002929.2
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M129	NC_000912.1
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	RU7	NW_017264775.1
<i>Candida albicans</i>	SC5314	NC_032089.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PAO1	NC_002516.2

Reactividad analítica - Inclusividad

Las secuencias de los cebadores y sondas del ORF1ab, N y E del SARS-CoV-2 se compararon con la base de datos completa de GISAID utilizando la aplicación PrimerChecker. En el momento del análisis (junio de 2021), la base de datos GISAID no contenía ninguna secuencia variante del SARS-CoV-2 que tuviera mutaciones en dos o las tres dianas que dieran lugar a cebadores o sondas con una homología inferior al 90 % para la secuencia diana. Esto sugiere que todas las variantes actuales del SARS-CoV-2 serán detectadas por al menos dos de las tres dianas del ensayo 3515-0010 RT-q-PCR.

Rendimiento clínico

En un estudio de evaluación se analizaron 156 muestras nasofaríngeas positivas y 124 negativas. Se evaluó la sensibilidad y especificidad diagnóstica del kit en comparación con un método de análisis de referencia (3501-0010 SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit, Revvity). La sensibilidad y especificidad diagnóstica del kit de reactivo RT-qPCR SARS-CoV-2 Plus (N/ORF1ab/E/S 69_70del) (3515-0010) fueron del 99.4 % y del 100.0 %, respectivamente.

Método de referencia	3515-0010	
	Detectado	No detectado
Detectado	155	1 ^{*)}
No detectado	0 ^{**)}	123

*) Los datos incluían un caso fallido que al repetirse dio lugar a una mezcla de resultados positivos y negativos con ambos métodos. Los datos sugieren que la concentración de esta muestra está cerca o por debajo del límite de detección de ambos métodos. Con ambos métodos, la interpretación del resultado se basa en el primer resultado observado.

**) Se observó un resultado positivo con el método 3515-0010, pero el resultado positivo no se pudo repetir con ninguno de los métodos. La muestra fue excluida debido a la sospecha de contaminación del pocillo. Esto subraya la importancia de los procedimientos de trabajo limpios para todos los ensayos de PCR (véase el apartado «Notas de procedimiento»).

La información de la secuenciación de la delección del gen Spike H69_V70 (delTACATG) se obtuvo a partir de 136 muestras positivas al virus analizadas en el mismo estudio de evaluación. Los resultados de la delección H69_V70 del gen Spike obtenidos con el kit de reactivo RT-qPCR SARS-CoV-2 Plus (N/ORF1ab/E/S 69_70del) (3515-0010) en comparación con el método de referencia (secuenciación) se describen en la tabla siguiente.

Método de referencia (secuenciación delTACATG)	3515-0010, delección de Spike H69_V70 (delTACATG)	
	Positivo	Negativo
Positivo	86	0
Negativo	0	50

GARANTÍA

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

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

REFERENCIAS

- [1] Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) in suspected human cases, World Health Organization, 2020.
- [2] Health Protection Agency. Good Laboratory Practice when Performing Molecular Amplification Assays. National Standard Method QSOP. 2018; Q 4, Issue no: 5.
- [3] Instructions for Submission Requirements: In vitro diagnostics (IVDs) Detecting SARS CoV-2 Nucleic Acid. Emergency Use Listing of IVDs - WHO, version 2

Copyright © 2021, Revvity, Inc. Todos los derechos reservados.

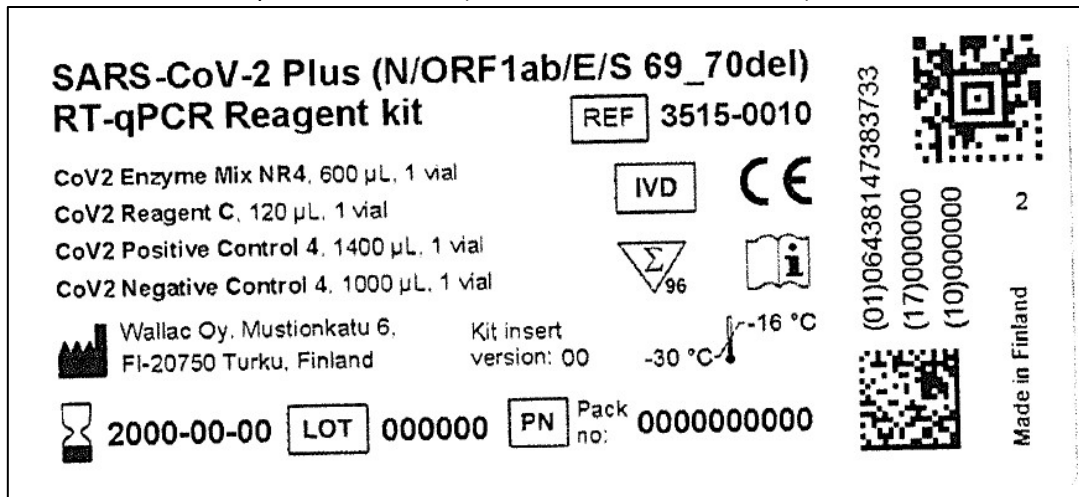
Última revisión 10 de mayo de 2023

3515-0010 Kit de reactivos RT-qPCR SARS-CoV-2 Plus (N/ORF1ab/E/S 69_70del)
Etiquetado del dispositivo

Etiquetado del envase exterior

1 Etiqueta del kit

Dimensiones de la etiqueta 35 × 80 mm (nº de artículo 3515-0010-500)

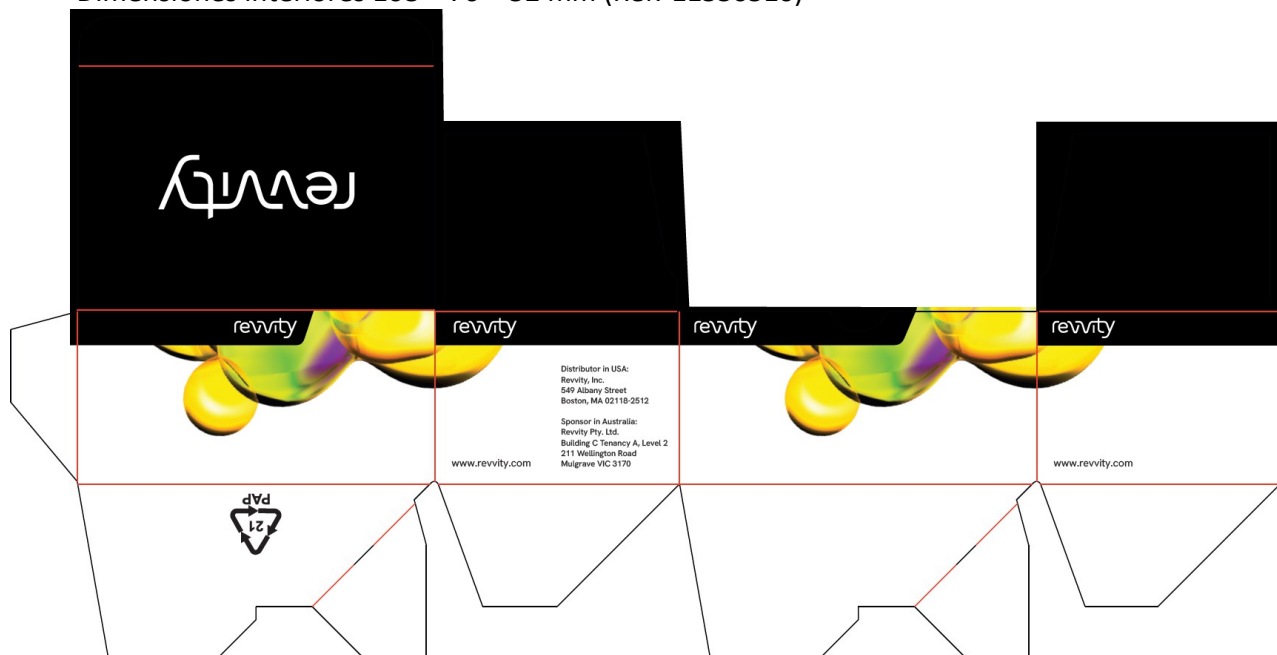


La información específica del lote se imprime durante el proceso de envasado

- Número de lote
- Fecha de caducidad (AAAA-MM-DD)
- Número de embalaje
- Kit de inserción
- Código identificador único de dispositivo (UDI)

2 Envase del dispositivo

Dimensiones interiores 108 × 76 × 52 mm (Ref. 11550510)



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

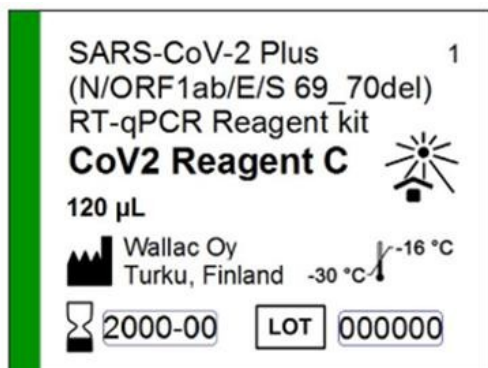
Distributor in USA:
Revvity, Inc.
549 Albany Street
Boston, MA 02118-2512

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

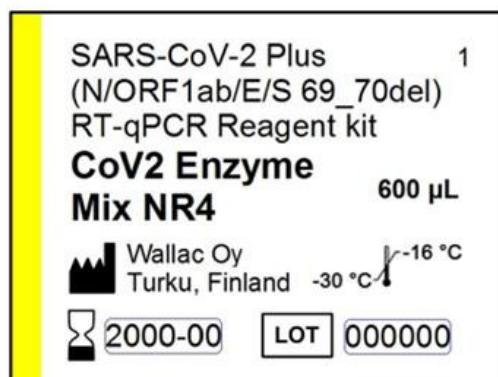
Etiquetas para envases inmediatos

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

Dimensiones de la etiqueta 25 × 33 mm (Nº de artículo 13409463)



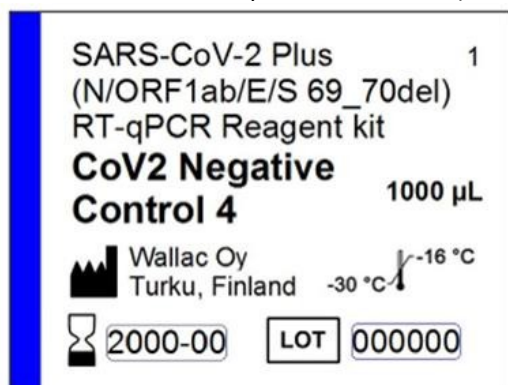
Dimensiones de la etiqueta 25 × 33 mm (Nº de artículo 13409464)



Dimensiones de la etiqueta 25 × 33 mm (Nº de artículo 13409462)



Dimensiones de la etiqueta 25 × 33 mm (Nº de artículo 13409171)



Los números de artículo (nº de artículo) entre paréntesis se indican para la trazabilidad dentro de la empresa.

La información aquí presentada es confidencial y sólo puede utilizarse con fines reglamentarios.