



de Precision Biomonitoring Inc. Prueba paraTM SARS-CoV-2 TripleLock

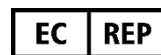
Información sobre el producto e instrucciones de
uso v. 3.0

Fecha de publicación: 15 de mayo de 2021.

Número de documento: IFU-F000014



Precision Biomonitoring Inc.
5420 Highway 6 N.
Orchard Park Suite 226
Guelph, Ontario
N1H 6J2
Canadá
☎ 1-888-444-7702
✉ support@
precisionbiomonitoring.com



OBELIS S.A
Bd. Général Wahis, 53
1030 Bruselas
Bélgica
☎ +32.2.732.59.54
☎ +32.2.732.60.03
✉ mail@obelis.net
🌐 www.obelis.net



Índice

1	Descripción del dispositivo	3
1.1	Uso previsto	3
1.2	Información sobre los antecedentes clínicos.....	3
1.3	Usuario previsto.....	4
1.4	Principio de la prueba / Principios de operación	5
1.5	Configuración del producto	5
1.6	Componentes del ensayo	6
2	Especificaciones.....	7
3	Recolección de la muestra	10
4	Instrucciones de uso	11
5	Interpretación de los resultados.....	13
6	Precauciones y advertencias.....	14
7	Glosario de símbolos.....	15

Para instrucciones de uso en otros idiomas, visite:

<https://precisionbiomonitoring.com/triplelock-lab-test/>

1 Descripción del dispositivo

1.1 Uso previsto

Las pruebas para el SARS-CoV-2 TripleLock™ de Precision Biomonitoring Inc. son pruebas cualitativas de RT-qPCR para la detección del nuevo coronavirus humano en exudados nasofaríngeos recolectados en un ámbito clínico y almacenados en medios de transporte viral, tomados de pacientes que cumplen con los criterios clínicos o epidemiológicos para realizar la prueba de la COVID-19. Este dispositivo no está indicado para su uso en el punto de atención (junto al paciente). Esta prueba requiere el uso de un kit para la extracción del ARN y un termociclador para qPCR, los cuales no se incluyen con la prueba. Los resultados se utilizarán en la identificación del ARN del SARS-CoV-2. Sin embargo, el análisis no permite diferenciar entre el SARS-CoV-2 y el SARS-CoV-1. Por lo general, el ARN del SARS-CoV-2 se puede detectar en exudados nasofaríngeos durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos indican la presencia de ARN del SARS-CoV-2, pero es necesario hacer una correlación clínica con los antecedentes del paciente y otro tipo de información de diagnóstico a fin de determinar el estado de la infección del paciente. Los resultados positivos no excluyen la posibilidad de que exista una infección bacteriana o coinfección con otros virus. Es posible que el agente detectado no sea la causa definitiva de la enfermedad.

Se exige a los laboratorios que notifiquen los resultados positivos a las autoridades sanitarias competentes. Los resultados negativos no excluyen la posibilidad de infección con el SARS-CoV-2 y no se deben utilizar como único fundamento para tomar decisiones con respecto a la gestión del paciente. Es necesario que los resultados negativos se cotejen con la valoración clínica, los antecedentes del paciente y la información epidemiológica. Solo para uso en un laboratorio.

1.2 Información sobre los antecedentes clínicos

Los coronavirus (CoV) constituyen una familia de virus que causan enfermedades que van desde el resfriado común hasta afecciones más graves, como el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y el síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV). El nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) es una nueva cepa que no había sido identificada anteriormente en seres humanos. El reciente brote de SARS-CoV-2 se ha extendido a millones de personas a nivel mundial. El agente patógeno presenta tasas de transmisión elevadas y se contagia por medio de las gotículas pulverizadas provenientes de las vías respiratorias de los pacientes infectados. El SARS-CoV-2 es extremadamente virulento e infeccioso.

El cuadro clínico va desde una virosis asintomática hasta una enfermedad potencialmente mortal. Cuando se presenta, los signos de la infección incluyen síntomas respiratorios, como tos, disnea, dificultad para respirar y fiebre, así como fatiga, exantema, pérdida del sentido del gusto o del olfato, y malestar estomacal. En los casos más graves, puede provocar neumonía, insuficiencia renal y la muerte.

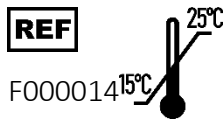
1.3 Usuario previsto

La prueba para el SARS-CoV-2 TripleLock™ ha sido diseñada para ser utilizada por personal de laboratorio cualificado, que haya recibido formación específica en el uso de esta prueba por parte de Precision Biomonitoring, para la detección *in vitro* del ARN del SARS-CoV-2 en exudados nasofaríngeos tomados de pacientes con signos y síntomas de infección sospechosos de la COVID-19. Este dispositivo no está indicado para su uso en el punto de atención (junto al paciente).

Nota: Otros tipos de exudados, incluidos los exudados nasales y del cornete medio, se consideran aceptables para el uso con esta prueba, pero no se ha establecido el desempeño con estos tipos de especímenes.

1.4 Principio de la prueba / Principios de operación

La prueba para el SARS-CoV-2 TripleLock™ de Precision Biomonitoring es una prueba de RT-qPCR múltiple. El dispositivo requiere de una muestra de ARN extraído del medio de transporte viral en el que se ha recogido un exudado nasofaríngeo. También se requiere de un termociclador de qPCR con el cual ejecutar la prueba. Precision Biomonitoring comercializa el formato de placa de 96 pocillos, que ha sido evaluado en el CFX96.



Dianas

Proteína E

UTR

CONTROL+ RNasaP

Se contemplan dos dianas virales para permitir la redundancia y reducir la probabilidad de obtener resultados negativos. A continuación se incluye más información sobre las muestras de control y las dianas moleculares.

1.5 Configuración del producto

El formato de placa de 96 pocillos del ensayo para el SARS-CoV-2 TripleLock de Precision Biomonitoring (F000014) consta de una placa de reactivos para PCR de 96 pocillos dividida previamente en partes alícuotas. Cada pocillo contiene una microesfera con un reactivo liofilizado triple que contiene todos los reactivos necesarios para llevar a cabo la reacción de RT-qPCR.

Para ejecutar esta prueba se requiere de un extracto de ARN y un termociclador compatible para PCR en tiempo real; también se necesita una pipeta de 20 µl y puntas de filtro estéril para cargar o mezclar las muestras en la placa. Precision Biomonitoring no suministra estos instrumentos.

Nota: Precision Biomonitoring no suministra muestra para control externo para uso con el ensayo de SARS-CoV-2 TripleLock™ de Precision Biomonitoring.

1.6 Componentes del ensayo

Las dianas moleculares de este ensayo son: la proteína E y las regiones UTR del genoma del SARS-CoV-2 y la RNasaP como muestra para control positivo interno. El gen de la RNasa P es un gen humano de copia única que codifica la fracción de ARN para la enzima de la RNasa P, que se usa como diana molecular endógena humana en este ensayo para confirmar la correcta amplificación de la muestra en ausencia del SARS-CoV-2 y que se haya usado suficiente material para la extracción de ARN. Con el fin de ser compatible con el termociclador, el ensayo tiene las siguientes modificaciones para cada sonda, respectivamente:

Modificaciones de las sondas usadas en este dispositivo:

Nombre	Secuencia con modificaciones
Proteína E_P	5' TexRd-XN-/-BHQ2
UTR_P	5' FAM-/-BHQ1
RNasa P_P	5' ATTO647NN-/-3IAbRQSp

2 Especificaciones

VII. Especificaciones

Especificaciones clave de funcionamiento del ensayo para el SARS-CoV-2 TripleLock™ de Precision Biomonitoring. Los resultados se generaron con el kit de preparación M1 y el instrumento de PCR en tiempo real Franklin, ambos de Biomeme.

Especificación	Detalles	Funcionamiento
Reactividad cruzada	Se analizaron agentes patógenos comunes (bacterianos y virales) con el kit de preparación M1 y el ensayo para SARS-CoV-2 TripleLock™ con el fin de verificar la existencia de reactividad cruzada que pudiera causar un falso positivo para SARS-CoV-2.	No se observó reactividad cruzada con los patógenos analizados. Existen pocas probabilidades de generar falsos positivos a partir de patógenos respiratorios.
Límite de detección (LOD)	El LOD se midió con las muestras preparadas a partir de suspensiones celulares positivas adicionadas en muestras clínicas negativas en UTM.	El LOD final calculado para el ensayo es de 1×10^4 copias/200 μ l de muestra inicial introducida (correspondiente a $2,12 \times 10^2$ suponiendo que no haya pérdida durante la extracción). El LOD es similar en el formato de placa de 96 pocillos.
Evaluación clínica	Se analizaron 33 muestras positivas y 34 muestras negativas con el ensayo para el SARS-CoV-2 TripleLock™ y la prueba de los CDC (Centros para el control y la prevención de enfermedades) de EE. UU. Se analizaron además 10 muestras positivas y 10 muestras negativas con el formato de 96 pocillos.	Concordancia del 100 % frente a la prueba de referencia con todas las muestras positivas y negativas en todos los formatos de la prueba.

Datos de reactividad cruzada del ensayo para el SARS-CoV-2 TripleLock™ de Precision Biomonitoring. Los resultados se generaron con el kit de preparación M1 y el instrumento de PCR en tiempo real Franklin, ambos de Biomeme.

Espécimen confirmado clínicamente	5'UTR Cq	Proteína E Cq	RNasaP Cq
Virus			
Exudado nasal en UTM, negativo	0	0	35,90
Virus paragripal 1	0	0	26,03
Virus paragripal 2	0	0	27,16
Virus paragripal 3	0	0	25,91
Virus paragripal 4	0	0	29,74
Coronavirus humano 229E	0	0	23,81
Coronavirus humano HKU1	0	0	27,73
Coronavirus humano NL63	0	0	27,27
Coronavirus humano OC43	0	0	27,69
SARS-CoV2 (control positivo)	30,58	27,00	25,49
Adenovirus	0,00	0	28,29
Metaneumovirus humano	0	0	28,32
Influenza A - H1N1	0	0	27,18
Influenza A - H3N2	0	0	26,20
Influenza B	0,00	0,00	29,76
Enterovirus (sin subtipo)	0,00	0,00	27,57
Virus sincicial respiratorio	0,00	0,00	27,12
Rinovirus	0,00	0,00	30,14
Haemophilus influenzae	0,00	0	26,96
Streptococcus pneumoniae	0	0	27,13
Streptococcus pyogenes	0	0	27,83
Candida albicans	0	0	28,25
Pseudomonas aeruginosa	0,00	0	27,05
Staphylococcus epidermis	0	0	27,28
Staphylococcus salivarius	0,00	0	27,46
Mycoplasma pneumoniae	0	0	27,43
Chlamydia pneumoniae	0	0	27,08
Legionella pneumophila	0	0	24,20
Bordatella pertussis	0	0	n/a
Pneumocystis jiroveci	0	0	n/a
MERS	0	0	29,20
SARS-CoV-1	16,38	11,17	0,00

Datos de repetibilidad del ensayo para el SARS-CoV-2 TripleLock™ de Precision Biomonitoring. Los resultados se generaron con el kit de preparación M1 y el instrumento de PCR en tiempo real Franklin, ambos de Biomeme.

A. Variación de los valores de Cq en un análisis.

	Franklin D13AB6A254B2			Franklin CC92BD2871DB			Franklin C43440902003		
	UTR	Proteína E	RNasa P	UTR	Proteína E	RNasa P	UTR	Proteína E	RNasa P
\bar{x}	28,98	26,88	27,28	29,06	26,95	27,39	29,03	26,96	27,76
σ	0,374797	0,336693	0,472211	0,588501	0,201179	0,478864	0,501677	0,442525	0,492146

B. Variación de los valores de Cq entre análisis.

	UTR	Proteína E	RNasa P
\bar{x}	29,02	26,93	27,48
σ	0,497045	0,343397	0,522158

C. Variación de los valores de Cq en el mismo día.

Día		UTR	Proteína E	RNasa P
1	\bar{x}	28,91	26,84	28,91
1	σ	0,528507	0,528507	0,528507
2	\bar{x}	28,67	28,67	28,67
2	σ	0,453346	0,453346	0,453346
3	\bar{x}	29,07	29,07	29,07
3	σ	0,318276	0,318276	0,318276
4	\bar{x}	29,28	29,28	29,28
4	σ	0,450843	0,450843	0,450843
5	\bar{x}	29,19	29,19	29,19
5	σ	0,458395	0,458395	0,458395

D. Variación de los valores de Cq entre días.

	UTR	Proteína E	RNasa P
\bar{x}	29,02	26,93	27,48
σ	0,497045	0,343397	0,522158

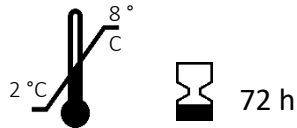
E. Variación de los valores de Cq entre instrumentos.

	Franklin D13AB6A254B2	Franklin CC92BD2871DB	Franklin C43440902003
\bar{x}	27,72	27,80	27,92
σ	0,996085	1,013425	0,979807

3 Recolección de la muestra

La recolección de la muestra no forma parte de la prueba para el SARS-CoV-2 TripleLock™. Está diseñada para ser utilizada con una muestra de ARN extraído del medio de transporte viral en el que se ha recogido un exudado nasofaríngeo por parte de un profesional de la salud. Es fundamental para el funcionamiento de la prueba que la recolección, conservación y transporte de la muestra se hagan de manera adecuada. Si la recolección, el manejo o el transporte de la muestra se hacen de forma inadecuada, la prueba puede dar un resultado no válido.

Conservación de la muestra antes de la extracción del ARN:



4 Instrucciones de uso



Formato de la prueba para el SARS-CoV-2 de Precision Biomonitoring en placa de 96 pocillos con el instrumento BioRad CFX-96.

Cada prueba para el SARS-CoV-2 de Precision Biomonitoring contiene todo lo que se requiere para analizar un exudado nasofaríngeo tomado de un paciente y conservado en medio de transporte viral. Los análisis se pueden hacer con un termociclador compatible. La prueba se evaluó en el Bio-Rad CFX-96.

Se necesitan los siguientes materiales:

- Reactivos para qPCR liofilizados para pruebas del SARS-CoV-2 de PBI en un formato de placa de 96 pocillos (Precision Biomonitoring **REF** F000014)
- CFX-96 (BioRad) u otro termociclador compatible
- Kit para extracción de ARN



-



-



- Hipoclorito sódico al 10% y agua destilada

Con el fin de reconstituir las pruebas para el SARS-CoV-2 de Precision Biomonitoring para su uso, se debe añadir 20 µl de extracto de ARN purificado y pipetear de 3 a 5 veces para mezclar completamente. Cambie las puntas y repita el procedimiento con cada muestra que se analice. Compruebe que no se formen burbujas. Si se considera necesario, se puede utilizar un agitador para eliminar las burbujas. Después de preparar las muestras, aplique la película adhesiva óptica a la placa y cárguela en el termociclador.

Establezca las condiciones del ciclo que se indican a continuación:

55 °C x 10 min

95 °C x 10 min

Ciclos de 45°

95 °C x 10 s

60 °C x 20 s

Elija los siguientes canales de fluoróforos para cada diana molecular:

UTR – FAM

Proteína E - Texas Red

RNasa P - Quasar 670

Marque todas las muestras durante el análisis y haga el rastreo en una segunda ubicación.

- No se deben hacer modificaciones a este protocolo, cambiarlo o ajustarlo de ninguna manera.



Compruebe que la identificación de la muestra se corresponde con los datos del paciente. No incluya datos de identificación personales.

Aproximadamente 1 hora.

5 Interpretación de los resultados

Una vez que termine el análisis, los datos se deben interpretar usando la siguiente tabla:

Proteína E	UTR	RNasa P	Resultados
+	+	±	Positivo
Si solo una de las dianas es positiva.		+	No concluyente, repita la prueba para confirmar un resultado positivo
Si solo una de las dianas es positiva.		-	No concluyente, repita la prueba para confirmar un resultado positivo
-	-	-	No válido*
-	-	+	Negativo

*Si el resultado de la diana de RNasa P es negativo y el resultado de las otras dianas también es negativo, quiere decir que se ha producido un error en la extracción o en el ciclado. Si todas las muestras del análisis presentan este resultado, es probable que se trate de un error de ciclado. Si solamente hay un error en alguna de las muestras, esto indica que hubo un error en la extracción del ARN o que la cantidad de la muestra inicial era insuficiente. Repita la prueba.

Los resultados de la prueba se consideran negativos para una diana si el valor de Cq está por encima de 38 ciclos.

CONTROL






















Se deben llevar a cabo los controles de calidad según la reglamentación vigente y según los procedimientos de control de calidad estandarizados del laboratorio.

6 Precauciones y advertencias



- Siempre use el equipo de seguridad y EPP adecuados. Consulte las fichas de datos de seguridad si necesita más información.
- Elimine todo el material que pueda ser dañino o presente un posible riesgo biológico según las normas provinciales y federales de su región.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección con el virus SARS-CoV-2 y no debe constituirse en el único fundamento para tomar decisiones sobre la gestión del paciente.
- Se exige a los laboratorios que notifiquen los resultados positivos a las autoridades sanitarias competentes.
- Las muestras se deben recolectar, transportar y conservar mediante los procedimientos apropiados y en las condiciones adecuadas. La recolección, transporte o conservación inadecuados de las muestras pueden impedir que el ensayo detecte las secuencias diana.
- Es posible que se generen resultados falsos negativos si:
 - Se recolecta o se conserva la muestra de manera inadecuada.
 - No se puede encontrar la muestra de ácido nucleico en la matriz de la muestra.
 - No se usan los reactivos autorizados.
 - Hay presencia de inhibidores de la RT-PCR.
 - Se presenta una mutación del virus SARS-CoV-2.
 - No se siguen las instrucciones de uso.
- Es posible que se generen resultados falsos positivos si:
 - Se produce contaminación cruzada durante la manipulación o la preparación de las muestras.
 - Se produce contaminación cruzada entre las muestras de los pacientes.
 - Se mezclan las muestras de los pacientes.
 - Se produce contaminación con ARN durante la manipulación del producto.
- Este ensayo no permite diferenciar entre el SARS-CoV-2 y el SARS-CoV-1
- Las prestaciones de este dispositivo no se han evaluado en una población vacunada contra el COVID-19

7 Glosario de símbolos

 Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	 No reutilizar, de un solo uso.	 Fabricante	 Marca CE	 Número de catálogo
 Control	 Control negativo	 Control positivo	 Fecha de caducidad	 Código de lote
 Desecho de residuos apropiado	 Desinfectante para superficies de trabajo	 Número de identificación de muestra	 Tiempo de espera	 Advertencia
 Teléfono	 Fax	 Correo electrónico	 Sitio web	 Fecha de fabricación
 Mantener seco	 Consulte las instrucciones de uso	 Límite de temperatura	 Representante autorizado en la Comunidad Europea	
 Equipo de protección personal apropiado: guantes, bata de laboratorio, protección facial/ocular				



OBELIS S.A
Bd. Général Wahis, 53
1030 Bruselas
Bélgica
☎ +32.2.732.59.54
☎ +32.2.732.60.03
✉ mail@obelis.net
🌐 www.obelis.net



Precision Biomonitring Inc.
5420 Highway 6 N.
Orchard Park Suite 226
Guelph, Ontario
N1H 6J2
Canadá
☎ 1-888-444-7702
✉ support@precisionbiomonitring.com