

# ES Manual de instrucciones

## ViroQ SARS-CoV-2

Equipo de prueba para la detección cualitativa del ARN del SARS-CoV-2

Instrucciones de funcionamiento en versión electrónica, ver [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com)



**REF 728250 ViroQ SARS-CoV-2 96 pruebas**

**REF 728251 ViroQ SARS-CoV-2 480 pruebas**

Para su uso con		
Tipos de muestra	Kits de extracción de ARN / Instrumentos de extracción automatizada	Instrumentos de PCR en tiempo real
Frotis nasofaríngeo (NF)	QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini Kit	Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System
Frotis orofaríngeo (OF)	QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini QIAcube Kit / QIAcube	
Frotis nasal	QIAGEN QIASymphony DSP Virus/ Pathogen Mini Kit / QIASymphony SP	Roche LightCycler® 480 System II
Frotis nasal anterior	Roche Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit / MagNA Pure 96 Instrument	Applied Biosystems QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR-System 96-Well Fast, computador portátil
Frotis de cornete medio		

**Nota importante:** Algunos cicladores requieren compensación o calibración de color. La lista, que se actualiza continuamente, se puede consultar en nuestro sitio web mediante el botón «Configuración del ciclador»: <https://www.bag-diagnostics.com/en/sars-cov-2-en.html>

Los cambios en la versión 4/2020 están marcados en amarillo.

**Versión: 5/2021 / Estado: 2021-09**

**Contenido**

1. FINALIDAD PREVISTA.....	3
2. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO .....	3
3. PRINCIPIO DE PRUEBA .....	3
4. MATERIAL.....	3
4.1 Contenido del kit ViroQ SARS-CoV-2.....	3
4.2 Reactivos adicionales necesarios y equipos .....	4
4.3 Cicladores y recipientes de reacción validados .....	4
5. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD .....	5
6. MÉTODOS DE PRUEBA .....	5
6.1 Precauciones e indicaciones especiales .....	5
6.2 Aislamiento del ARN .....	5
6.3 Preparación de los reactivos .....	6
6.4 Amplificación.....	6
<b>6.5 Configuración del ciclador.....</b>	<b>7</b>
6.6 Interpretación de los resultados .....	10
7. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO .....	12
7.1 Límite de detección .....	12
7.2 Evaluación clínica de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico.....	12
7.3 Reactividad cruzada.....	13
8. ADVERTENCIAS Y PRECUCIONES.....	14
9. LÍMITES DEL MÉTODO.....	14
10. CONTROL DE CALIDAD INTERNO .....	15
11. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS .....	15
12. MARCAS COMERCIALES UTILIZADAS EN ESTE DOCUMENTO/PRODUCTO .....	15
13. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS UTILIZADOS EN LAS ETIQUETAS .....	16
14. BIBLIOGRAFÍA.....	17

## 1. FINALIDAD PREVISTA

El kit ViroQ SARS-CoV-2 se utiliza para la detección cualitativa del ARN del SARS-CoV-2 en material de muestras de las vías respiratorias, como frotis nasofaríngeos (NF), orofaríngeos (OF), nasales, nasales anteriores y de cornete medio, mediante la transcripción inversa del ARN y su posterior amplificación en la PCR en tiempo real. La prueba es realizada por personal calificado en laboratorios especializados.

## 2. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El kit ViroQ SARS-CoV-2 se utiliza para la detección in vitro del ARN del SARS-CoV-2 en material de muestra de las vías respiratorias, tales como frotis nasofaríngeos (NF), orofaríngeos (OF), nasales, nasales anteriores y de cornete medio. El kit se basa en una reacción de un solo paso utilizando tecnología PCR en tiempo real. Con una eficiente síntesis de ADNc a partir de ARN en combinación con una PCR en tiempo real, el kit ViroQ SARS-CoV-2 ofrece la posibilidad de realizar la prueba en un solo recipiente de reacción. El kit contiene iniciadores y sondas fluorescentes para la amplificación y detección de fragmentos de genes para el SARS-CoV-2. También incluye un control interno para asegurar un muestreo correcto y una amplificación exitosa.

## 3. PRINCIPIO DE PRUEBA

La prueba se realiza usando ARN como material de base. El ARN se convierte en ADNc con una transcriptasa inversa y luego se amplifica en una PCR. Los iniciadores están diseñados específicamente para la amplificación selectiva del ADNc transcrito de los genes virales RdRP y E (RdRP Gen: Institut Pasteur Protocol: Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2. [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2); E Gen: Corman et al. 2020). Los amplicones se detectan con sondas de hidrólisis marcadas con fluorescencia (sondas TaqMan®), las cuales también son específicas para el SARS-CoV-2.

Si hay amplicones, las sondas son hidrolizadas por la polimerasa Taq y se genera una señal de fluorescencia que aumenta en proporción a la cantidad de producto de la PCR. Las señales de fluorescencia se miden con la unidad de detección óptica del Real-Time PCR-Cycler.

La prueba se realiza en una sola reacción PCR que detecta los dos genes virales RdRP y E y un gen humano de expresión universal (Rnase P) con diferentes colores fluorescentes. La detección del gen Rnase P asegura un muestreo correcto, el aislamiento del ARN y la amplificación por RT-PCR.

## 4. MATERIAL

### 4.1 Contenido del kit ViroQ SARS-CoV-2

- **ViroQ|ENZYME** ViroQ Enzyme (encima), liofilizada, contiene transcriptasa inversa, polimerasa Taq, dNTPs
- **ViroQ|SOLV** ViroQ Solvent (disolvente), listo para su uso, contiene tampón de reconstitución para ViroQ Enzyme
- **ViroQ|MIX** ViroQ Mix (mezclador), listo para su uso, contiene iniciadores, sondas, tampón de almacenamiento

- **CONTROL+** **ViroQ Pos Ctrl (reactivo para control positivo)**, control positivo, seco, contiene ARN humano, ARN de referencia para el virus
- **IFU** o **eIFU** **Instrucciones de funcionamiento o instrucciones de funcionamiento en versión electrónica**

#### 4.2 Reactivos adicionales necesarios y equipos

- Reactivos para el aislamiento de ARN (kits de aislamiento de ARN validados, véase 6.2)
- Real-Time Cycler (ciclador validado, véase 4.3)
- Recipientes de reacción con tapas o láminas para PCR de tiempo real (productos validados, véase 4.3)
- H<sub>2</sub>O libre de RNase
- Pipetas operadas por pistón (0.5 - 1000 µl) y puntas
- Kit de compensación de color para el LightCycler® 480 I+II, 2.0 (REF 728258 ViroQ CC Light Cycler®, proporcionado por BAG Diagnostics)
- Kit de compensación de color para el QuantStudio, StepOne, ABI 7500, ViiA7 (REF 728260 RT CC Universal Applied Biosystems® proporcionado por BAG Diagnostics)

#### 4.3 Cicladores y recipientes de reacción validados

Cicladores	Recipientes de reacción	Sistemas de cierre
CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System Fa. Bio-Rad	FrameStar® Break-A-Way PCR Plate, Low Profile, 96 white wells, black frame Product No. 4ti-1201 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ Product No. 4ti-0755/120 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences
		qPCR Seal Product No. 4ti-0560 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences
	Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, Low Profile, thin wall, skirted, white/white Product No. HSP9655 Fa. Bio-Rad	0.2 ml Flat PCR Tube 8-Cap Strips, optical, ultraclear, Product No. TCS0803 Fa. Bio-Rad
LightCycler® 480 System II Fa. Roche	LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, white Product No. 04729692001 Fa. Roche	qPCR Seal Product No. 4ti-0560 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences
QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR-System 96-Well Fast, laptop Fa. Applied Biosystems	Vari-Strip™ 8 Well PCR Tube Strips Product No. 4ti-0753 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ Product No. 4ti-0755/120 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences
	FrameStar® 96 Well Semi-Skirted, PCR Plate, ABI® FastPlate Style, white wells, clear frame Product No. 4ti-0911 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences	qPCR seal, Product No. 4ti-0560 Fa. 4titude / Brooks Life Sciences

**Nota especial:** Si se utilizan otros Real-Time Cyclers (cicladores en tiempo real), recipientes de reacción y sistemas de cierre, estos deben ser validados por el usuario.

## 5. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los kits se envían a temperatura ambiente. Todos los reactivos deben ser almacenados en un equipo de temperatura controlada  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  al ser recibidos. La fecha de caducidad se indica en las etiquetas de los reactivos. La fecha de caducidad que figura en la etiqueta exterior se refiere al reactivo de menor duración. Los reactivos ViroQ Enzyme y ViroQ Solvent pueden ser almacenados a temperatura ambiente hasta el final de su vida útil, siempre y cuando el liofilizado no se haya disuelto con el tampón de reconstitución. Después de la disolución tiene una vida útil de 12 meses.

Debe evitarse la descongelación y congelación repetida de reactivos ya disueltos (más de dos veces), ya que ello puede afectar al rendimiento del ensayo. Los reactivos deben alicuotarse para su uso intermitente.

## 6. MÉTODOS DE PRUEBA

### 6.1 Precauciones e indicaciones especiales

Las técnicas de genética molecular son métodos especialmente delicados y, por ello, solo deben ser realizadas por personal cualificado y con experiencia en técnicas de genética molecular.

Se deben tomar precauciones especiales para evitar la contaminación y, por lo tanto, las reacciones falsas:

- ◆ use siempre guantes (preferiblemente sin talco)
- ◆ use puntas nuevas (con filtro o sello integrado) para cada paso de pipeteo
- ◆ dos áreas de trabajo separadas para la preamplificación (preparación de las reacciones) y la posamplificación (detección); de ser posible, utilice dos salas separadas
- ◆ use únicamente el equipo y los demás materiales en las respectivas estaciones de trabajo, no los intercambie.

### 6.2 Aislamiento del ARN

El material de muestra para el aislamiento del ARN debe enviarse en sistemas de muestreo adecuados. Para una correcta toma de muestras, deben seguirse las instrucciones de la OMS presentes en el siguiente enlace <https://www.who.int/csr/sars/sampling/en/>. Se recomienda usar kits con la certificación CE IVD para el aislamiento del ARN.

Kits de aislamiento de ARN validados:

#### De uso manual

- QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini Kit

#### Automatizados

- QIAGEN QIAamp<sup>®</sup> Viral RNA Mini QIAcube Kit
- QIAGEN QIASymphony<sup>®</sup> DSP Virus/Pathogen Mini Kit
- Roche MagNA Pure 96 DNA y Viral NA Small Volume Kit

Si se utiliza el método estándar establecido del laboratorio para el aislamiento del ARN y este no corresponde a uno de los kits validados anteriormente, este debe ser validado por el usuario.

### 6.3 Preparación de los reactivos

#### ViroQ Enzyme

La mezcla de enzimas ViroQ Enzyme está liofilizada y debe ser disuelta con 400 µl de disolvente ViroQ Solvent antes de su uso mediante pipeteo.

#### ViroQ Pos Ctrl

El reactivo para control positivo ViroQ Pos Ctrl está seco y, por eso, debe ser disuelto en 30 µl de H<sub>2</sub>O libre de RNase metiendo y sacando con la pipeta; se deja rehidratar completamente durante 15 minutos y luego se vuelve a mezclar con un vórtice.

### 6.4 Amplificación

Deberán utilizarse los recipientes de reacción recomendados por el fabricante del Real-Time Cycler o los materiales recomendados en la sección 4.3.

Para cada muestra se pipetea los siguientes reactivos en un recipiente de reacción:

- 4 µl ViroQ Enzyme
- 2 µl ViroQ Mix (iniciadores y sondas)
- 5 µl\* Muestra de ARN
- 9 µl H<sub>2</sub>O libre de RNase

\*Si se espera una concentración muy baja de copias de virus, se puede aumentar el volumen de la muestra y reducir la cantidad de agua al mismo tiempo.

El volumen de reacción para cada prueba PCR en tiempo real es de 20 µl.

Si se prepara una premezcla de ViroQ Enzyme, ViroQ Mix y H<sub>2</sub>O libre de RNase para más de una muestra, planifique una cantidad adicional razonable para las pérdidas propias del pipeteo.

Para la preparación del **Control Positivo (PTC)** se prepara una reacción PCR y se utiliza ViroQ Pos Ctrl en lugar de la muestra de ARN. Para la preparación de un **No Template Control (NTC)** se utiliza agua en lugar de ARN.

Cierre los recipientes de reacción y asegúrese de que el líquido esté en el fondo del recipiente de reacción. Asegúrese de que no haya burbujas en los recipientes de reacción. Si hay burbujas, golpee suavemente el banco de trabajo con el recipiente de reacción para eliminarlas.

Inicie el programa de PCR con los siguientes parámetros:

Paso	Tiempo	Temperatura	Número de ciclos
Transcripción inversa	20 min	48 °C	1 ciclo
Activación de la polimerasa	3 min	95°C	1 ciclo
Desnaturalización	15 segundos	95°C	45 ciclos
Hibridización + Extensión	30 segundos + lectura	58°C	

Los siguientes cicladores en tiempo real han sido validados para el kit ViroQ SARS-CoV-2:

Biorad: CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System

Roche: LightCycler® 480 System II

Applied Biosystems: QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR-System 96-Well Fast, portátil

Tenga en cuenta la configuración específica del dispositivo que se describe en [6.5 Configuración del ciclador](#).

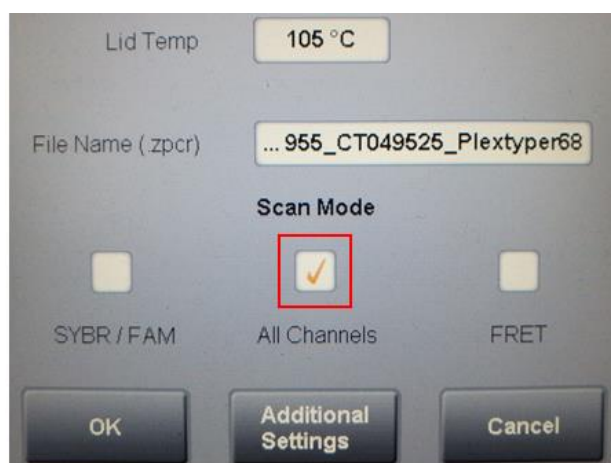
### **Nota especial**

Si se utilizan otros Real-Time Cyler (cicladores en tiempo real), estos deben ser validados por el usuario.

## **6.5 Configuración del ciclador**

### **Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System**

Para el uso en el CFX96 Touch™ deben realizarse los siguientes ajustes específicos. Antes de la puesta en marcha, debe ponerse una marca de verificación en «All Channels». La temperatura de la tapa se fija en 105 °C. Se utilizará la tasa de incremento estándar.



**Roche LightCycler® 480 II**

Para el uso en el LightCycler® 480 II deben realizarse los siguientes ajustes específicos. Al realizar el programa de PCR, debe configurarse la tasa de incremento correspondiente.

Paso	Tiempo	Temperatura	Tasa de incremento	Número de ciclos
Transcripción inversa	20 min	48 °C	4.4 °C/s	1 ciclo
Activación de la polimerasa	3 min	95°C	4.4 °C/s	1 ciclo
Desnaturalización	15 segundos	95°C	4.4 °C/s	45 ciclos
Hibridización + Extensión	30 segundos + lectura	58°C	2.2°C/s	

Los ajustes del filtro deben realizarse de la siguiente manera:

Excitation Filter	Emission Filter	Name	Melt Factor	Quant Factor	Max Integration Time (s)
533	580	Orange560	1	1	1
533	610	Red610	1	1	1
465	510	FAM	1	1	1

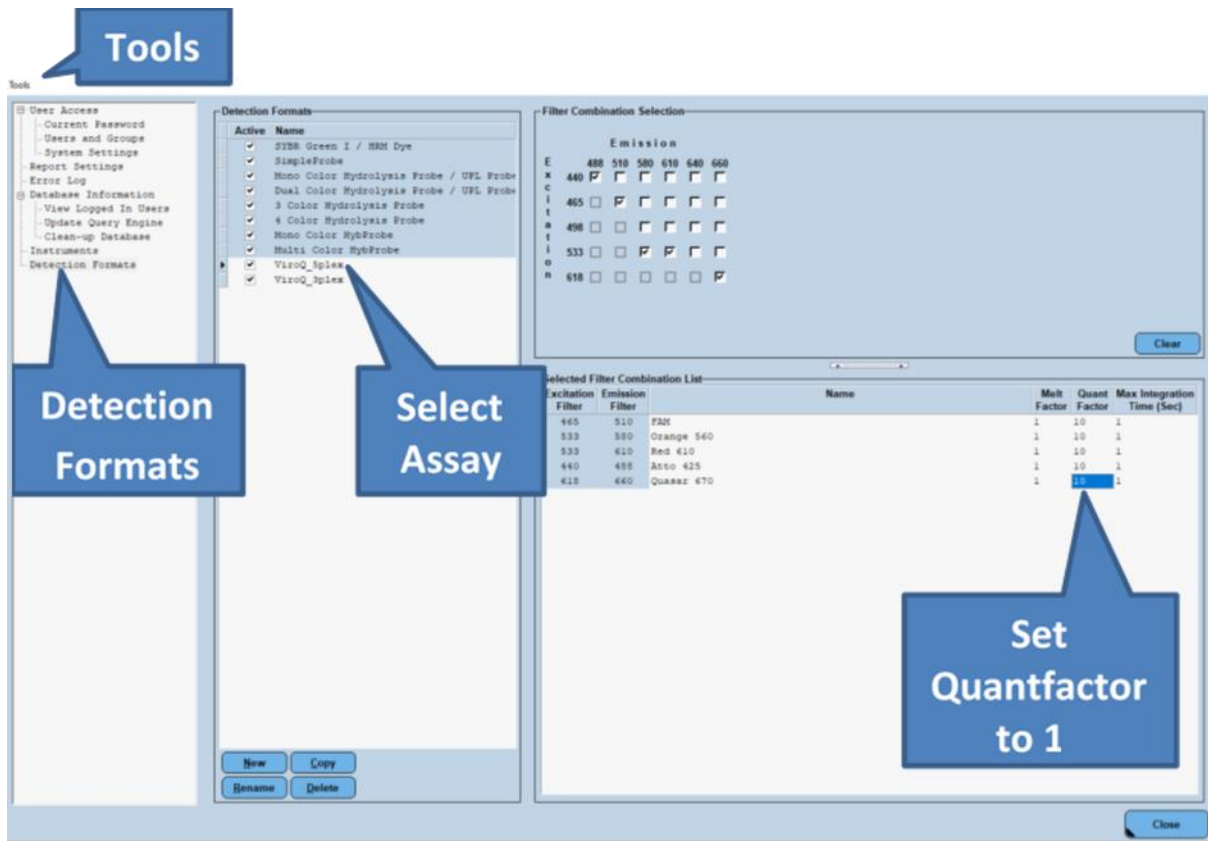
Max Integration Time se puede aumentar en caso de que la señal sea débil.

Para acceder a los ajustes del filtro, siga estos pasos:

Vaya a Tools → seleccione Detection Formats → seleccione Assay → realice los ajustes, por ejemplo, dé a Quantfactor el valor 1



Imagen de ejemplo con cinco canales. Solo se usarán los tres canales de la tabla anterior para la prueba ViroQ SARS-CoV-2.



### Applied Biosystems QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR-System 96-Well Fast

Para el uso en el QuantStudio™ 6 deben realizarse los siguientes ajustes específicos: Marque estas casillas en «Experiment properties».

**How do you want to identify this experiment?**

\* Experiment Name: 2021-02-11 080509      Comments:

Barcode:

User Name:

---

**Which instrument type are you using to run the experiment?**

QuantStudio™ 6 Flex System       QuantStudio™ 7 Flex System       ViiA™ 7 System

---

**Which block are you using to run the experiment?**

384-Well       96-Well (0.2mL)       Fast 96-Well (0.1mL)

---

**What type of experiment do you want to set up?**

Standard Curve       Relative Standard Curve       Comparative Cr (ΔΔCr)

Genotyping       Presence/Absence

---

**Which reagents do you want to use to detect the target sequence?**

TaqMan® Reagents       SYBR® Green Reagents       Other

---

**What properties do you want for the instrument run?**

Standard       Fast

En el elemento «Define», se seleccionan Target Name, Reporter y Quencher, ya que el laboratorio asignó los nombres correspondientes para la calibración del color. A continuación se muestra un ejemplo de estos ajustes.

Target Name	Reporter	Quencher
FAM	FAM	NFQ-MGB
Orange560	O560_50	NFQ-MGB
Red610	RED610_C1	NFQ-MGB

Al realizar el programa de PCR, debe configurarse la tasa de incremento correspondiente.

Paso	Tiempo	Temperatura	Tasa de incremento	Número de ciclos
Transcripción inversa	20 min	48 °C	3°C/s	1 ciclo
Activación de la polimerasa	3 min	95°C	3°C/s	1 ciclo
Desnaturalización	15 segundos	95°C	2.2°C/s	45 ciclos
Hibridización + Extensión	30 segundos + lectura	58°C	2.2°C/s	

## 6.6 Interpretación de los resultados

La evaluación de los resultados de las pruebas de las muestras clínicas debe realizarse después de que se hayan examinado los controles positivos y negativos y se hayan considerado válidos y aceptables. Si los controles no son válidos, los resultados del paciente no pueden ser interpretados.

Para las tres reacciones en la mezcla Multiplex-PCR-Mix se utiliza un Ct-Cutoff para definir las reacciones positivas. Si el valor Ct no es concluyente, puede ser útil comprobar las curvas de fluorescencia.

Todas las pruebas, excepto el control negativo (NTC), deben mostrar una señal de fluorescencia en el canal rojo con el control interno. Las muestras positivas de SARS-CoV-2 deben mostrar una señal positiva en el canal FAM (gen RdRP) o en ambos canales FAM y CFO560 / HEX / VIC / JOE (Gen E). El control positivo debe mostrar una señal de amplificación dentro de los valores Ct definidos en cada canal.

Canal	Especificidad
FAM	SARS-CoV-2 / Gen RdRP (por sus iniciales en inglés: RNA-dependent RNA-Polymerase)
CFO560 / HEX / VIC / JOE	Beta-CoV / E Gen (Sarbeco, Envelope)
CFR610 / Texas Red / ROX	Control celular / Rnase P

Las señales de amplificación para las muestras negativas del SARS-CoV-2 deben estar fuera de los valores Ct definidos para ambos canales (verde y naranja).

El NTC se utiliza como control de contaminación. Si se ha agregado de manera accidental el ARN o un amplificador contaminante, una señal positiva es visible en el NTC. Si el valor de Ct es inferior a

35, esto debe considerarse como una posible contaminación. Las señales de amplificación con valores de Ct por encima de 35 en el NTC pueden deberse a artefactos de PCR y pueden ser ignoradas, teniendo en cuenta la fluorescencia final (RFU) y la forma de la curva de amplificación (véase más adelante la interpretación de los resultados con valores de Ct entre 35 y 45). Si se sospecha que hay contaminación, se recomienda seguir las pautas de descontaminación local y reemplazar los reactivos.

Para que los resultados sean válidos, todos los valores de Ct deben ser positivos y  $\leq 35$  (véase el cuadro a continuación).

	Canal	Nivel Ct	Verificar	Longitud de onda en nm
Control celular	Rojo (CFR610)	$\leq 35^*$	>35-45**	Estímulo: 590 Emisión: 610
Gen RdRP del virus	Verde (FAM)	$\leq 35$	>35-45	Estímulo: 495 Emisión: 520
Gen E del virus	Naranja (CFO560)	$\leq 35$	>35-45	Estímulo: 538 Emisión: 559

\* Una alta concentración de ARN del SARS-CoV-2 en la muestra puede provocar la reducción o la ausencia de señales de control celular.

\*\* Un fallo en este control significa: Concentración insuficiente de material celular humano. Muestreo o envío de muestras inadecuado.

Independientemente del valor de Ct, una reacción positiva debería mostrar una curva de amplificación sigmoidea y suficiente fluorescencia final (RFU). La RFU depende del ciclador; la RFU final del control positivo puede ser usada como guía para la RFU final normal en un ciclador dado. El control positivo también puede utilizarse como ejemplo de la forma sigmoide correcta de la curva de amplificación. Por lo tanto, los resultados con valores de Ct superiores a 35 e inferiores a la RFU final deben ser comprobados en lo relativo a la forma sigmoide de la curva de amplificación y la plausibilidad de la reacción. Las muestras con resultados ambiguos deben repetirse e interpretarse en el contexto del desarrollo clínico del paciente. Si tiene preguntas sobre el ajuste del umbral o los valores límite de Ct, póngase en contacto con el departamento de servicio de BAG Diagnostics (teléfono: +49 6404 925125, e-mail: [info@bag-diagnostics.com](mailto:info@bag-diagnostics.com)) o su representante de ventas.

El siguiente cuadro muestra la interpretación de los resultados de la amplificación:

FAM Gen RdRP	CFO560 Gen E	CFR610 Control celular	Resultado
+	+	+*	Se detectó el ARN específico del SARS-CoV-2.
+	-	+*	Se detectó el ARN específico del SARS-CoV-2.
-	+	+*	Se detectó el ARN específico del Beta-CoV. Repita la prueba con la misma muestra o una nueva.
-	-	+	No se detectó ningún ARN específico del SARS-CoV-2. La muestra no contiene cantidades detectables o suficientes de copias (LoD) de ARN específico.
-	-	-**	Resultado inválido debido a la inhibición de la PCR en tiempo real o a fallo del reactivo. Repita el aislamiento del ARN y/o la prueba con la muestra original.

\* Una alta concentración de ARN del SARS-CoV-2 en la muestra puede provocar la reducción o la ausencia de señales de control celular.

\*\* Un fallo en este control significa: Concentración insuficiente de material celular humano. Muestreo, almacenamiento o envío de muestras inadecuado.

## 7. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO

La combinación de iniciadores y sondas asegura una identificación fiable del ARN específico del SARS-CoV-2. La precisión y la reproducibilidad de la especificidad del equipo de prueba se comprueba para cada lote con muestras de referencia previamente tipificadas.

### 7.1 Límite de detección

La concentración más baja de ARN del SARS-CoV-2 que se detecta con éxito con una probabilidad del 95% o superior define el límite de detección (LoD, por sus iniciales en inglés). El LoD se determinó utilizando cinco niveles diferentes de disolución de un ARN de referencia del virus, cada una de las cuales se probó en 20 réplicas. La sensibilidad analítica de la prueba RT-PCR ViroQ-SARS-CoV-2 es, por lo tanto, de **5 copias / 20 µl de reacción** para ambos genes (RdRP, gen E) con el sistema LightCycler® 480 II.

### 7.2 Evaluación clínica de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico

Para el kit ViroQ SARS-CoV-2 se realizó un estudio de evaluación del rendimiento con 371 muestras de ARN previamente tipificadas. Los resultados del estudio se compararon con los resultados obtenidos por un laboratorio clínico en pruebas de rutina con equipos de prueba de otro fabricante. Las discrepancias se resolvieron mediante una tercera prueba y varias pruebas repetidas. La evaluación definitiva de los resultados de una muestra se utilizó para calcular la especificidad de diagnóstico y la sensibilidad de la prueba.

Especificidad de diagnóstico: 99,7 %

Sensibilidad de diagnóstico: 100%

		ViroQ SARS-CoV-2	
		Positivo	Negativo
Evaluación final	Positivo	37	0
	Negativo	1*	333

\* mensaje personal del laboratorio clínico informante: Hubo una reacción débil con Ct tardío para esta muestra, pero dio negativa, debido a la información clínica adicional.

### 7.3 Reactividad cruzada

La reactividad cruzada de los iniciadores con otros virus y bacterias respiratorias fue probada por el Instituto Pasteur (París) y por Corman et al. 2020 con muestras positivas conocidas. Ninguno de los organismos probados mostró reactividad.

Para demostrar la especificidad analítica y la exclusividad del kit ViroQ SARS CoV-2, se utilizó un panel de control que contenía 22 patógenos respiratorios (partículas de virus y células bacterianas intactas). El ARN se extrajo de cada grupo contenido en el panel (véase el cuadro a continuación) y se probó con el kit ViroQ SARS-CoV-2. Ningún grupo mostró reactividad con el gen RdRP o el gen E.

Panel de control respiratorio					
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
Adenovirus tipo 3	✓				
Coronavirus OC43	✓				
Metapneumovirus humano (Peru6-2003)**	✓				
Parainfluenza Tipo 2	✓				
<i>B. pertussis</i> (A639)	✓				
Coronavirus NL63		✓			
Bocavirus lambda (recombinante, aislado 2)		✓			
Influenza A H1 (A/Nueva Caledonia/20/99)		✓			
Parainfluenza Tipo 3		✓			
Coronavirus 229E			✓		
Rinovirus (1A)			✓		
Influenza A H3 (A/Brisbane/10/07)			✓		
<i>C. pneumoniae</i> (CWL-029)			✓		
Influenza B (B/Florida/02/06)				✓	
Parainfluenza Tipo 4A				✓	
Virus respiratorio sincitial B (CH93(18)-18)				✓	
<i>M. pneumoniae</i> (M129)				✓	
Coronavirus HKU-1 (recombinante)				✓	
Influenza A H1N1 (A/NY/02/09)					✓
Parainfluenza Tipo 1					✓
Virus respiratorio sincitial A (aislado en 2006)					✓
<i>L. pneumophila</i> (Philadelphia)					✓

## 8. ADVERTENCIAS Y PRECUACIONES

El kit ViroQ SARS-CoV-2 se ha desarrollado para fines de diagnóstico in vitro y solo debe ser utilizado por personal debidamente capacitado y cualificado. Todo el trabajo debe realizarse utilizando buenas prácticas de laboratorio.

El reactivo ViroQ Solvent está sujeto a ser etiquetado como sustancia tóxica con una **advertencia de peligros para la salud**. Véase el cuadro del capítulo 13 para más información.

El material biológico utilizado para extraer ARN (por ejemplo, las muestras de las vías respiratorias) debe tratarse como potencialmente infeccioso. Se recomienda aplicar las precauciones de seguridad adecuadas al manipular material biológico (no pipetee con la boca; use guantes desechables y protección oronasal al manipular material biológico y realizar la prueba; desinfecte las manos después de terminar la prueba).

Los materiales biológicos deben ser inactivados antes de su eliminación (por ejemplo, por autoclave). Después de su uso, los materiales desechables deben ser esterilizados en autoclave o incinerados.

Los derrames de material potencialmente infeccioso deben eliminarse inmediatamente con una toalla de papel absorbente y el área contaminada debe desinfectarse con un desinfectante adecuado o con etanol al 70 %. El material utilizado para eliminar los derrames debe ser inactivado (por ejemplo, mediante autoclave) antes de su eliminación.

La eliminación de todos las pruebas, reactivos no utilizados y desechos debe hacerse de acuerdo con la legislación local y nacional.

Debe evitarse la contaminación microbiana de los reactivos al tomar alícuotas. Se recomienda el uso de pipetas desechables estériles y puntas de pipeta. No utilice reactivos con enturbiamiento o signos de contaminación microbiana.

Se puede descargar una ficha de seguridad de materiales o una ficha de datos de seguridad (MSDS) en [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com).

## 9. LÍMITES DEL MÉTODO

Las mutaciones o polimorfismos en los sitios de unión del iniciador y la sonda pueden conducir a resultados negativos falsos.

Debido a la gran susceptibilidad del método de PCR en tiempo real para contaminaciones cruzadas, es necesario tener una precaución especial al aislar el ARN.

La presencia de los inhibidores de PCR puede llevar a resultados inválidos con este producto. Un resultado negativo no excluye una posible infección, ya que los resultados dependen de una adecuada recolección de muestras, de la ausencia de inhibidores y del LoD definido.

Se debe tener un cuidado extremo para evitar la contaminación de los reactivos del kit y de otros materiales y equipos de laboratorio con amplicones, ARN o ADN. Se recomienda encarecidamente realizar pruebas de limpieza periódicas y controles negativos (NTC) con agua destilada para cada ensayo.

No debe haber ninguna señal fluorescente en el control negativo con agua destilada (Ct > N.A.). Para un desarrollo de señal en el control negativo, consulte el capítulo 6.5 y, en su caso, descontamine la estación de trabajo de PCR y sustituya los reactivos si es necesario.

Todos los instrumentos (por ejemplo, las pipetas, el ciclador) deben calibrarse según las instrucciones del fabricante.

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

## 10. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El control de calidad interno de los nuevos lotes del kit ViroQ SARS-CoV-2 se puede realizar utilizando una combinación de muestras de ARN, en las que se sabe de antemano si son positivas o negativas. Se recomienda realizar controles negativos para detectar una posible contaminación. Para ello, utilice una reacción de PCR con agua libre de RNase como NTC.

## 11. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS








Síntoma	Posible causa	Posible solución
<b>Mala o ninguna señal</b>	Presencia de inhibidores.	Usar reactivos frescos.
	No hay ARN en la reacción.	Repetir la prueba. Asegurarse de que el pipeteo se realice correctamente.
	Degradación de las sondas fluorescentes o de los iniciadores.	Usar ViroQ Mix fresco. Evitar la exposición a la luz y el descongelamiento y la congelación frecuentes. ¡Respetar las condiciones de almacenamiento!
	Burbujas en la reacción PCR, residuos líquidos en la pared interior de los recipientes de reacción.	Pipetear con cuidado. Centrifugar brevemente la placa de PCR.
	El material plástico no es compatible o es de baja calidad	Utilizar productos plásticos compatibles de buena calidad (véase el capítulo 4.3).
	Evaporación de los reactivos debido a un sellado incorrecto de los recipientes de reacción de la PCR.	Asegurarse de que los recipientes de reacción PCR estén correctamente sellados. Tener cuidado con los bordes de las láminas de sellado.
<b>Señal en el control negativo</b>	Contaminación con ARN o ADN en el control negativo	Repetir el control negativo. Descontaminar el lugar de trabajo.

## 12. MARCAS COMERCIALES UTILIZADAS EN ESTE DOCUMENTO/PRODUCTO

TaqMan® es una marca de Roche Molecular Systems Inc.

Cal Fluor® es una marca registrada de la empresa LGC Biosearch Technologies.

## 13. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS UTILIZADOS EN LAS ETIQUETAS

	Suficiente para n pruebas
	Temperatura de almacenamiento / límite inferior de temperatura
	Puede usarse hasta
	Siga las instrucciones de uso
	Fabricante
<b>DRY</b>	Seco
<b>CONT</b>	Contenido, contiene
<b>CONTROL   +</b>	Control positivo
<b>IFU</b>	Instrucciones de uso
<b>or</b>	O
<b>eIFU</b>	Instrucciones de uso en versión electrónica
<b>IVD</b>	Dispositivo de diagnóstico in vitro
<b>LOT</b>	Número de lote
<b>LYOPH</b>	Liofilizado
<b>REF</b>	Orden no.
<b>ViroQ   ENZYME</b>	Mezcla de enzimas para productos ViroQ
<b>ViroQ   MIX</b>	Mezcla de iniciadores para productos ViroQ
<b>ViroQ   SOLV</b>	Disolvente para la mezcla de enzimas ViroQ
	<b>Advertencia</b> H302: Nocivo si se ingiere H412: Nocivo para organismos acuáticos, con efectos a largo plazo
	<b>Peligros para la salud</b> H371: Puede causar daños en el sistema nervioso central. Ruta de exposición: Oral



#### 14. BIBLIOGRAFÍA

Victor M Corman, Christian Drosten et.al.(2020), Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR, Euro Surveill. 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

Institut Pasteur Protocol: Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2. [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2)

Puede encontrar más información en nuestra página web <http://www.bag-diagnostics.com>

Para obtener manuales de instrucciones en otros idiomas visite:

<http://www.bag-diagnostics.com> o póngase en contacto con nosotros a través del correo electrónico [info@bag-diagnostics.com](mailto:info@bag-diagnostics.com) o del teléfono: +49 6404-925-125