

Oct
2021



Logix Smart™ ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2)

Para uso diagnóstico in vitro

Logix Smart™ ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2)
CO-DIAGNOSTICS, INC.

CO-DIAGNOSTICS, INC. | 2401 Foothill Dr., Ste D, Salt Lake City, UT 84109 USA

REF

ABC-K-001

CE

IVD

TABLA DE CONTENIDOS

1	USO PREVISTO	3
1.1	Indicaciones para su uso	3
2	DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y PRINCIPIO DE LA PRUEBA	3
2.1	Principios de operación.....	4
3	almacenamiento y manejo de reactivos	5
4	MATERIALES REQUERIDOS PERO QUE NO ESTÁN INCLUIDOS EN LA PRUEBA	6
4.1	Consumibles requeridos pero no suministrados	7
4.2	Equipo requerido pero no suministrado.....	7
5	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	7
6	RECOLECCIÓN DE MUESTRAS, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO	8
6.1	Espécimen del tracto respiratorio inferior.....	8
6.2	Espécimen del tracto respiratorio superior	9
6.3	Saliva	9
6.4	Manejo de las muestras.....	9
6.5	Almacenamiento de muestras	10
6.6	Envío de las muestra	10
7	PROCEDIMIENTO	11
7.1	Preparación de la muestra.....	11
7.2	Configuración de reactivo del Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)	11
7.3	Preparación de la reacción.....	12
7.4	Preparación de Instrumento qPCR para la CoDx Box	12
7.5	Configuración del instrumento qPCR.....	13
8	ANÁLISIS DE DATOS.....	14
8.1	Ajustes de análisis	15
8.2	Controles positivos.....	16
8.3	Control negativo.....	16
8.4	La Validez de las Corridas Diagnósticas	17
8.5	Interpretación de resultados	17
9	RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS	20



9.1	Estabilidad.....	20
9.2	Errores de usuario.....	20
9.3	Resultados inválidos.....	20
10	LIMITACIONES.....	23
11	EVALUACIÓN ANALÍTICA.....	23
11.1	Precisión.....	23
11.2	Límite de detección (LoD) – sensibilidad analítica.....	25
11.3	Especificidad analítica – inclusividad.....	27
11.4	Especificidad Analítica – Reactividad Cruzada - Exclusividad.....	31
11.5	Exclusividad de prueba húmeda.....	34
11.6	Evidencia clínica.....	36
11.7	Resumen de desempeño.....	39
12	FABRICANTE Y REPRESENTANTE AUTORIZADO.....	40
13	ReFERENCIAS.....	40
14	LEYENDA DE SÍMBOLOS DE EMPAQUE.....	42

1 USO PREVISTO

El Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2) es una prueba a tiempo real multianálisis de RT-PCR usando tecnología propietaria de CoPrimer™ prevista para una detección cualitativa simultánea y diferenciación de ácido nucleico de Influenza A, Influenza B y síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV2), teniendo por objetivo regiones conservadas de genomas de virus en el tracto respiratorio bajo (es decir, en lavado bronco alveolar, esputo, aspiraciones traqueales), y muestras del tracto respiratorio superior (es decir, nasofaríngeo y muestras bucofaríngeas) y saliva de individuos que se les sospecha que tienen Influenza A, Influenza B o la enfermedad del coronavirus COVID-19 y sus condiciones relacionadas.

1.1 Indicaciones para su uso

Los resultados son para la identificación de ARN de Influenza A (gen M), Influenza B y SARS-CoV-2. El ARN es generalmente detectable en fluidos del tracto respiratorio bajo (es decir, lavado bronco alveolar, esputo, aspiración traqueal) y saliva durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos son indicativos de la presencia del material genómico de Influenza A, Influenza B y / o SARS-CoV-2; la correlación clínica con el historial del paciente y otra información de diagnóstico es necesaria para determinar el estado de infección del paciente. Los resultados positivos no descartan una infección de bacteria o una coinfección con otros virus. El agente detectado puede no ser la causa definitiva de la enfermedad. Se le requiere a muchos laboratorios reportar todos los resultados positivos a las autoridades apropiadas de salud pública.

Los resultados negativos no precluyen una infección de Influenza A, Influenza B y / o SARS-CoV-2 y no deben ser usados como la única base para decisiones de gestión del paciente. Los resultados negativos deben ser combinados con observaciones clínicas, historial del paciente e información epidemiológica.

La prueba Logix Smart ABC tiene el uso previsto por personal de laboratorio clínico calificado y entrenado específicamente instruido y entrenado en técnicas de PCR a tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

2 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba Logix Smart ABC es una prueba múltiple de reacción en cadena de polimerasa de transcripción reversa (rRT-PCR) a tiempo real que utiliza la tecnología CoPrimer patentada de la Compañía (Satterfield, 2014) (Poritz & Ririe, 2014). Los CoPrimer están configurados para poder detectar Influenza A (gen (M), Matriz), Influenza B (gen (NS) No Estructural) y SARS-CoV-2 (gen RdRp y gen E) en los fluidos del tracto respiratorio inferior (es decir, lavado bronco alveolar, esputo, aspiraciones traqueales), y fluidos del tracto respiratorio superior (es decir, nasofaríngeo y muestras bucofaríngeas) y saliva de

pacientes que se sospecha que tienen Influenza A, Influenza B, o enfermedad del coronavirus del 2019 (COVID-19).

Cada **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2)** consiste de los siguientes componentes:

- Mezcla Maestra lista para usar, completa con un control interno positivo (RNasaP Humana) para verificar la calidad de la muestra y la extracción.
- Control Positivo (PC), para verificar el desempeño de la mezcla maestra y la estabilidad de los componentes.
- Agua Libre de Nucleasas como un control negativo, para verificar que la muestra está libre de contaminaciones.

2.1 Principios de operación

La prueba inicia con la selección del tipo de la muestra, seguido por una recolección de una muestra por un proveedor del cuidado de la salud entrenado. La muestra debe ser identificada siguiendo el sistema de calidad del laboratorio y regulaciones actuales. La muestra debe ser almacenada adecuadamente hasta que se realicen las pruebas en las mismas instalaciones o se envíen al laboratorio asignado.

El kit de prueba clínica Logix Smart ABC es una prueba multiplexada de un solo paso de PCR de transcripción reversa de PCR en tiempo real que puede ser descompuesta en 3 etapas: preparación de muestra, transcripción reversa, y la reacción en cadena de polimerasa (PCR) con monitoreo de tiempo real. El ensayo también incluye un control interno positivo (IPC) que actúa como un control de extracción para poder confirmar el desempeño de la extracción.

La preparación de la muestra del PCR requiere que las muestras deban ser procesadas para poder descomponer las células y los virus para poder exponer el material genético. Para este proceso, se usa un sistema de extracción que está disponible comercialmente. En este proceso, los ácidos nucleicos son aislados y luego son purificados de los fluidos del tracto respiratorio inferior (es decir, lavado bronco alveolar, esputo, aspiración traqueal), o del fluidos del tracto respiratorio superior (es decir, nasofaríngeos y muestras bucofaríngeas) o saliva.

El ácido nucleico purificado es luego puesto en la mezcla maestra del Logix Smart ABC, 10 µl de cada uno. La muestra maestra está premezclada y contiene los componentes necesarios para poder realizar tanto la transcripción reversa como PCR y no necesita ser preparado por anticipado por el usuario. Las reacciones luego serán puestas en un termociclador utilizando las siguientes condiciones de ciclos: 15 minutos a 45 °C, 2 min a 95 °C, 50 ciclos x [3s a 95 °C, 32s a 55 °C]. El paso de 15 minutos a 45 °C es el paso de transcripción reversa, donde el cADN es creado del formato de ARN. Los 2 minutos a 95 °C es para poder desactivar la transcriptasa reversa y actúa como un paso de desnaturalización inicial para el PCR, el cual luego es seguido para el termo ciclado para el PCR.

Durante el PCR, el FAM etiquetado como CoPrimer frontal actúa como un primer frontal y prueba. Durante la fase de recocido / extensión del PCR, la actividad 5' de nucleasas de las polimerasas Taq degradan la porción del CoPrimer que se ha recocido con la secuencia objetivo, causando la separación espacial entre el fluoróforo y el enfriador, generando una señal fluorescente. Con cada ciclo, las moléculas adicionales de fluoróforo se adhieren a sus puntos respectivos, aumentando la intensidad de la fluorescencia. La intensidad de la fluorescencia es monitoreada al final de cada ciclo por un termociclador de tiempo real, especialmente el CoDx Box. Consulte Tabla 1 para componentes incluidos en kit de prueba.

Tabla 1

Componentes incluidos en el kit de prueba

Color de la Tapa	Componente	Símbolo	Número Individual de Catálogo	Descripción	Cantidad
Café	Muestra Maestra Logix Smart ABC	MM	ABC-MM-001	Mezcla propietaria de CoPrimers™ y reactivos PCR	1 x 1000µL (100 reacciones) o 1 x 25000 µL (2,500 reacciones)
Rojo	Control Positivo de Logix Smart ABC	PC	ABC-PC-001	Mezcla propietaria de formatos sintéticos de Influenza A/B, SARS-CoV-2	1 x 1000µL (100 reacciones) o 1 x 25000 µL (2,500 reacciones)
Transparente	Agua Libre de Nucleasas	NTC	GEN-NF-001	Agua libre de actividad de DNasas / RNasas	1 x 1000µL (100 reacciones) o 1 x 25000 µL (2,500 reacciones)

3 almacenamiento y manejo de reactivos

- El kit **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV2)** se envía en hielo seco. Los componentes del kit deben llegar congelados. Si uno o más de los componentes no están congelados al recibirse, o se han comprometido durante el envío, contacte a su distribuidor para asistencia.
- Todos los componentes deben almacenarse debajo de -20°C al momento de llegar para prevenir degradación de los reactivos.
- Siempre trabaje con cada componente **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** sobre hielo. Haga alícuotas, de ser necesario, para evitar múltiples ciclos de congelamiento / descongelamiento.

- Si trabaja en un área predispuesta a pérdidas de energía, se recomienda tener un generador de respaldo para su freezer al igual que un registrador de datos de temperatura para asegurar que el kit de prueba de **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** se mantenga congelado a -20°C.
- Los datos de estabilidad del producto actualmente se están recolectando y los resultados serán publicados y nuevas Instrucciones para el Uso se actualizarán para reflejar las condiciones de estabilidad.

4 MATERIALES REQUERIDOS PERO QUE NO ESTÁN INCLUIDOS EN LA PRUEBA

Consulte Tabla 2 y Tabla 3 para materiales requeridos pero que no están en la prueba.

Tabla 2

Los sistemas de extracción y automatización validados con la prueba

Reactivo de Extracción		Plataforma de Automatización (Si está Disponible)	Fabricante	Volumen de Ingreso de Muestra / Volumen de Elución de la Muestra
Nombre	Num. De Catálogo			
Mini Kit de ARN Viral QIAmp (Qiagen) (QIAmp Viral RNA Mini Kit)	52904 (50 extracciones) 52906 (250 extracciones)	N/A	Qiagen	200 µL / 60 µL

Tabla 3

Termocicladores validados pero no incluidos con la prueba

Máquina de Termociclador	Número de Catálogo	Fabricante
CoDx Box	MIC-4	Co-Diagnostics, Inc.
Mic qPCR Cycler	MIC-4	BMS, Bio Molecular Systems
PCRmax Eco 48 Real-Time qPCR System	EW-93947-00	PCRmax Limited
CFX 96 Touch Real-Time PCR Detection System	1855195	Bio-Rad

4.1 Consumibles requeridos pero no suministrados

- Guantes libres de polvo desechables y batas de laboratorio.
- Puntas de pipetas desechables con filtros
- Blanqueador del 10% u otra solución de limpieza adecuada que degrade los ácidos nucleicos
- Platos PCR o tubos de ensayo en tiras para el termociclador que se está usando.

4.2 Equipo requerido pero no suministrado

- Varias micropipetas capaces de cargar volúmenes de 5 µL a 1000 µL
- Un bloque frío o hielo
- Vórtice y centrífugo
- Gabinete de Bioseguridad Clase II, idealmente en una instalación de contención de BSL-2, para la extracción
- Estación de trabajo PCR, para la colocación de la mezcla maestra y configuración
- Un termociclador apropiado

5 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES



¡ADVERTENCIA!

Antes de realizar cualquier prueba o correr cualquier muestra de un paciente, verifique que todos los instrumentos han sido instalados adecuadamente, calibrados y están en buen estado. **No** use instrumentos con una calibración fuera de fecha.

Al igual que con cualquier otro diagnóstico o experimento de laboratorio, las buenas prácticas de biología molecular son esenciales para el desempeño adecuado de la qPCR o cualquier experimento de laboratorio. Se debe prestar atención a los procedimientos en particular a los procedimientos de diagnóstico molecular. Debido a la alta sensibilidad del **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** y la tecnología qPCR, se debe ejercer cuidado cuando se maneja las muestras y los materiales mientras se realizan los ensayos para mantener a los reactivos y las mezclas de amplificación libres de contaminación. Los usuarios deben prestar atención a lo siguiente:

- Use puntas de pipetas estériles con filtros.
- Use precauciones estándar cuando maneja muestras de pacientes, ya que pueden contener agentes infecciosos.

- Almacene y extraiga materiales positivos (especímenes, controles y amplificadores) separadamente de otros reactivos).
- Siempre use agua libre de nucleasas, suministrados en este kit.
- Consulte las Hojas de Datos de Seguridad (SDS – Safety Data Sheets) para su seguridad. Las SDS para el kit de prueba **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** son provistos con el envío. Si no se proveen con el envío, las SDS pueden obtenerse de Co-Diagnostics de la página web en el vínculo: <http://co-dx.com/products/diagnostic-solutions/>
- Para prevenir contaminación, se requiere que use las Buenas Prácticas de Laboratorio para Biología Molecular, la cual requieren un flujo de trabajo unidireccional y la separación de materiales negativos y positivos.
- Por favor, siempre use la versión más reciente de este documento dado que se agrega más información con estudios futuros. Esto se puede descargar de forma gratuita en la página <http://co-dx.com/resources/instructions-for-use/>

6 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO

La selección de muestra, recolección, almacenamiento y manejo juegan una parte esencial en el desempeño de los ensayos de ácido nucleico. Si el laboratorio no tiene procedimientos internos para la selección, recolección, almacenamiento y manejo del espécimen del paciente, esta sección brinda algunos lineamientos básicos en caso de necesidad; sin embargo, los laboratorios deben seguir las regulaciones locales, validación y procedimientos internos para la selección de la muestra, recolección, transporte y almacenamiento y cualquier otro procedimiento de manejo.

Para más información, visite las páginas web de la CDC de los Estados Unidos, la CDC Europea y de la OMS en las siguientes direcciones:

- CDC - <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/index.html>
- CDC Europeo - <https://www.ecdc.europa.eu/en/novel-coronavirus/laboratory-support>
- OMS - <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>

6.1 Espécimen del tracto respiratorio inferior

- 6.1.1 Lavado bronco alveolar, aspiraciones traqueales: recolecte 2 – 3 mL en una copa de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapa del tipo rosa o un contenedor seco estéril. Refrigere el espécimen a 2 – 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo.
- 6.1.2 Esputo: haga que el paciente se lave la boca con agua y luego expectore un esputo tosiendo profundamente directamente en una copa de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapa del tipo rosa o un contenedor

seco estéril. Refrigere el espécimen a 2 – 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo.

6.2 Especímen del tracto respiratorio superior

- 6.2.1 Muestras nasofaríngeas Y muestras bucofaríngeas (muestras NP / OP) : use solo hisopos de fibra sintética únicamente con ejes plásticos. No use hisopos de alginato de calcio o hisopos con ejes de madera, dado que pueden contener sustancias que pueden inactivar algunos de los virus e inhibir la prueba del PCR. Coloque las muestras inmediatamente en tubos estériles conteniendo 2 – 3 mL de un medio de transporte viral. Los especímenes NP u OP deben mantenerse en contenedores separados. Refrigere el espécimen a 2 – 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo.

Nota: para la muestra nasofaríngea: Inserte un hisopo en la fosa nasal paralelo al paladar. Déjela en su lugar por unos segundos para poder absorber secreciones / muestree ambas áreas nasofaríngeas con el mismo hisopo.

- 6.2.2 Muestra bucofaríngea (es decir, muestra de la garganta): muestree la faringe posterior, evitando la lengua.
- 6.2.3 Lavado / aspiración nasofaríngea o aspiración nasal: recolecte 2 – 3 mL en una copa de recolección de esputo estéril, a prueba de fugas y con tapa del tipo rosca o un contenedor seco estéril. Refrigere el espécimen a 2 – 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo. O recolecte la muestra con un vial de medio de transporte de virus el cual no requiera refrigeración o transporte en una cadena de suministros fría. Puede requerir validación por parte del laboratorio.

6.3 Saliva

Recolecte 2 – 3 mL en un contenedor a prueba de fugas y con tapa del tipo rosca o recolecte la saliva hasta la línea de llenado para los kits de recolección de saliva con contenedores de tapa tipo rosca. un contenedor seco estéril. Refrigere el espécimen a 2 – 8 °C y envíe rápidamente al laboratorio de prueba en un paquete de hielo: Para los kits de recolección de saliva, siga las instrucciones del fabricante para las condiciones de almacenamiento y envío (CDC, 2020).

6.4 Manejo de las muestras

Los trabajadores de los laboratorios deben usar el equipo de protección personal (EPP) adecuado, el cual incluye guantes desechables, bata / traje de laboratorio, y protección ocular cuando estén manejando especímenes potencialmente infecciosos. Los especímenes clínicos de los que se sospecha o se ha confirmado

Influenza A, Influenza B y / o SARS-CoV-2, deben conducirse bajo un gabinete de bioseguridad de clase II en una instalación de contención de BSL-2. Más detalles se suministran en la *Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos (BMBL)* (CDC, 2009) o el *Manual de Bioseguridad de Laboratorios de la OMS* (OMS, 2004).

Para instrucciones específicas en el manejo de especímenes clínicos para la enfermedad del coronavirus del 2019, vea también la página web de la CDC para los *Lineamientos de Bioseguridad de Laboratorios Interinos para el Manejo y Procesamiento de Especímenes Asociados con la Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19)* (CDC, 2020).

6.5 Almacenamiento de muestras

Se recomienda que todos los tipos de especímenes sean procesados dentro de 48 horas después de su recolección, si se requiere de almacenamiento después de 48 horas, se recomienda que las muestras se mantengan congeladas, preferiblemente a -70 °C (ECDC, 2020). El congelamiento y descongelamiento repetitivo de un espécimen debe evitarse. Si un espécimen se retiene para volver a hacer pruebas, debe ser colocado en alícuotas en diferentes tubos para poder evitar los ciclos de congelamiento y descongelamiento. La temperatura en las áreas de almacenamiento debe ser monitoreado y registrado regularmente para poder identificar fluctuaciones potenciales. Los refrigeradores / freezers domésticos con fluctuaciones amplias de temperatura no son adecuados para el almacenaje de especímenes congelados (CDC, 2020).

6.6 Envío de la muestra

Los especímenes que se conocen que son o que se sospechan que tienen influenza A, influenza B y / o SARS-CoV-2 que requieren envío aéreo deben enviarse en hielo seco como una Sustancia Biológica de la Categoría B, UN3373. Las regulaciones internacionales, según se describe en la *Guía en Regulaciones para el Transporte de Sustancias Infecciosas 2015 – 2016* de la OMS, deben seguirse (CDC, 2020). Si se necesita de transporte terrestre, el espécimen debe enviarse en un envío expreso con suficiente hielo para mantenerlo congelado durante el tránsito. Después de la recolección de la muestra y la transferencia a un laboratorio clínico, la muestra recibirá ingreso en el sistema de laboratorios.

7 PROCEDIMIENTO

La Organización Mundial de la Salud recomienda registrar el nombre completo, la fecha de nacimiento, la información de contacto y al hora y fecha de recolección de las muestras de los pacientes. Adicionalmente, la información siguiente también puede recolectarse:

- Síntomas, día que iniciaron, duración de los síntomas, contacto con casos conocidos de COVID-19 (por ejemplo, un miembro familiar).
- Historial de viaje comprensivo (fechas, lugares, duración de la visita, etc.)

7.1 Preparación de la muestra

La calidad del ARN de la extracción de la muestra es esencial para el desempeño del **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)**. El protocolo de extracción debe realizarse siguiendo las instrucciones del fabricante

7.1.1 Extracción de ARN con QIAamp® Viral RNA Mini Kit, cat. no. 52904/52906, Qiagen

La extracción puede realizarse siguiendo las instrucciones del fabricante usando 140 µL de la muestra, y una elución usando 60 µL de búfer AVE. Para sensibilidad adicional, cargue hasta 200 µL de la muestra del paciente y aumente el volumen del Búfer AVL de 560 µL a 800 µL. Para asegurar la remoción del búfer de lavado residual de la muestra antes de la elución, un paso adicional de centrifugado (vea el procedimiento de extracción) usando un nuevo tubo de ensayo de recolección es requerido.



Los búfer de lavado residual usados en el kit de extracción contienen etanol. Es importante eliminar cualquier rastro de etanol antes de la elución del ácido nucleico. EL etanol es un inhibidor fuerte de PCR a tiempo real.

7.2 Configuración de reactivo del Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)

- Cuando se preparan los reactivos, limpie todas las superficies de trabajo con una solución fresca de 10% de solución de blanqueador seguido por alcohol del grado molecular u otro método equivalente de limpieza que desinfecte y degrade los ácidos nucleicos.
- La Muestra Maestra del **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)**, el Control Positivo (PC), y el agua libre de nucleasas (usado como un control sin formato o NTC) y tubos de muestras deben colocarse en el vórtice por 3 segundos, y brevemente ser girados antes de su uso para poder mezclar los

reactivos apropiadamente y para remover cualquier condensación o residuo de las tapas.

- Descongele todos los reactivos y muestras en hielo, o en un bloque frío, antes de iniciar la preparación.

7.3 Preparación de la reacción

- 7.3.1 Cada preparación de reacción debe incluir suficientes espacios de reacción para el número de muestras y al menos uno positivo y un control sin formato (NTC) (# de muestras del paciente + 2 = total de espacios de reacción necesarios). Por ejemplo: 5 pruebas de paciente a realizar + 1 espacio PC (control positivo) + 1 espacio NTC = 7 espacios para reacciones.
- 7.3.2 Toda acción con las pipetas debe realizarse sobre hielo, de ser posible. Se recomienda que las pipetas de control y elución de muestra se realicen en un área separada, si es posible, o en tiempos separados, de la Mezcla Maestra y el NTC. Cambie las puntas de las pipetas entre la elución de muestras y cambie las puntas después de colocar en pipetas cada componente. La pipeta del PC debe ser lo último si es posible, para prevenir eventos de contaminación.
- 7.3.3 Coloque 10 µL de la Mezcla Maestra en cada espacio que se use en un plato óptico o tubo de reacción apropiado (por ejemplo: Un instrumento PCR en tiempo real CoDx Box usa 48 espacios de tubos de reacción).
- 7.3.4 Coloque 10 µL de muestra (elución de la extracción de ácido nucleico) o 10 µL de un control (NTC y Control Positivo) a los espacios apropiados. Al menos un control positivo y un control NTC deben estar incluidos en cada prueba.
- 7.3.5 Selle el plato de reacción con una película adhesiva óptica o los tubos de reacción con tapas adecuadas.
- 7.3.6 Coloque los platos o tubos en un instrumento PCR en tiempo real en la orientación correcta e inicie la prueba.

7.4 Preparación de Instrumento qPCR para la CoDx Box

- 7.4.1 Contacte al Laboratorio al 801-438-1036 ext. 03 o en la dirección www.co-dx.com/contact/ para el archivo formato con la configuración de instrumento PCR descrito en la siguiente sección.

7.5 Configuración del instrumento qPCR

7.5.1 Consulte la Tabla 4 para conocer la configuración requerida.

Tabla 4

Configuración del instrumento qPCR

Artículo	Ajustes
Volumen de la Reacción	20 µL
Velocidad de Rampa	Predeterminado
Referencia Pasiva	Ninguna

7.5.2 Programe el instrumento PCR con las condiciones de ciclo que se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5

Condiciones de ciclo

Etapa	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Transcripción Reversa	1	45°C	15 minutos
Desnaturalización Inicial	1	95°C	2 minutos
Amplificación	45	95°C	3 segundos
		55°C	32 segundos

7.5.3 Defina los siguientes detectores de fluorescencia (tintes). Consulte Tabla 6.

Tabla 6

Defina los siguientes detectores de fluorescencia (tintes)

Objetivo	Nombre del Detector	Reportero	Enfriador
ARN específico a INFA	INFA	Quasar® 670	BHQ® - 2
ADN específico a INFA	INFB	CAL Flour® Naranja 560	BHQ® - 1
ARN específico a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	FAM™	BHQ® - 1
AND específico a la RNasaP (IPC)	RNasaP	CAL Flour® Rojo 610	BHQ® - 2

- Cuando se haya completado la prueba, asegúrese que el archivo de la prueba se haya guardado.

8 ANÁLISIS DE DATOS

El desempeño de esta prueba se estableció basándose en un número limitado de sujetos clínicos. El desempeño clínico no se ha establecido en todas las variantes circulantes, pero se prevé que será similar al desempeño en las variantes prevalentes en el momento y lugar de la evaluación clínica. El desempeño al momento de la prueba puede variar dependiendo de las variantes circulantes, incluyendo nuevas cepas emergentes de SARS-CoV-2 y sus prevalencias, las cuales cambian con el tiempo.

Los estudios de verificación y validación realizados para el **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** (Número de Catálogo ABC-K-001) fueron conducidos siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio para ensayos de Biología Molecular (Viana & Wallis, 2011). Si estas condiciones no se cumplieron, el desempeño mostrará mayor variabilidad debido a errores de usuario cuando se conduce el experimento.

8.1 Ajustes de análisis

Los parámetros de análisis en la CoDx Box o en el Ciclador Mic qPCR deben estar configurados a lo siguiente, pero después de cada corrida, los ajustes para el canal verde (monitoreando para el ARN del SARS-CoV-2), el canal rojo (monitoreando para el ARN de Influenza A), el canal amarillo (monitoreando para el ARN de Influenza B), y el canal anaranjado (monitoreando la RNasaP (IPC)), deben ser verificados a que cumplan con lo siguiente:

- Marcar la caja a “Auto Configurar Umbral”
- “Método” debe ser ajustado a Dinámico.
- “Nivel de Umbral” debe ser configurado 0.100.
- “Inicio del Umbral” debe estar configurado a 1.00
- “Ignorar los Ciclos Anteriores” debe estar configurado a 5
- “Exclusión” debe ser configurado a Extensivo
- “Nivel de Corte de Fluorescencia” debe ser configurado a 5.0%
- “Escala de Eje Y Inicial” debe ser configurado a Linear
- Marque la caja a “Auto Generar Análisis”

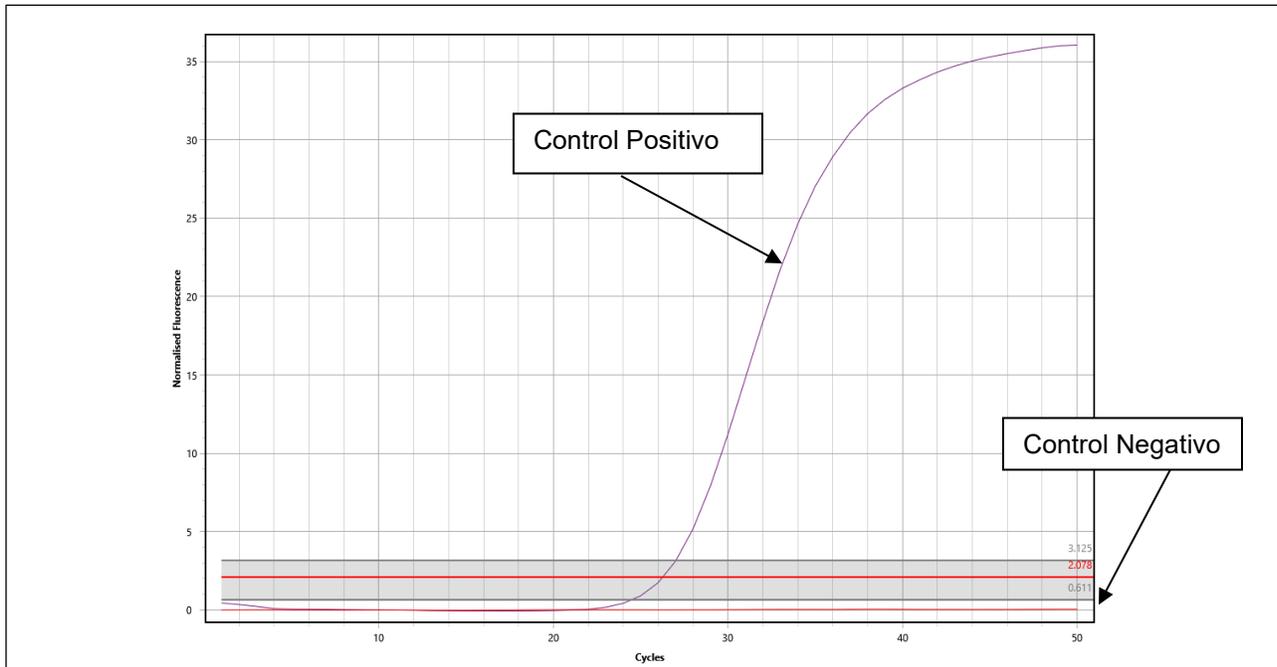
Para otros termocicladores, siga las instrucciones del fabricante para configurar el umbral adecuado.

8.2 Controles positivos

Marque el espacio de la reacción del control positivo. Cada control positivo debe mostrar una curva de amplificación para el marcador SARS-CoV-2 en el canal FAM, el marcador de la Influenza A en el Quasar 670 (Q670), el marcador de la Influenza B en el canal CF560, y una amplificación del control positivo interno para la RNasaP (IPC) en el canal CF610. Una curva de amplificación positiva debe verse de manera similar a la curva morada en la Figura 1 y debe tener un valor Cq debajo de los 40 ciclos.

Figura 1

Amplificación de Control Positivo (PC) y Control Sin Formato (NTC) para Logix Smart ABC



8.3 Control negativo

Luego seleccione el control negativo. Los resultados del control negativo no deben mostrar amplificación, específicamente con un valor Cq menor a 40. Un ejemplo de ninguna amplificación se puede ver en la Figura 1, como la línea roja, la cual está debajo del área del umbral. El área del umbral es la banda gris con la línea roja.

8.4 La Validez de las Corridas Diagnósticas

Revise a ver que tanto el control positivo y el control sin formato hayan pasado.

8.4.1 Consulte Tabla 7 para condiciones de control que deben cumplirse.

Tabla 7

Condiciones de control que deben cumplirse

Tipo de Control	Nombre de Control	Propósito del Control	INF A	INF B	SARS-CoV-2	Control Interno (RNasaP)
Control Positivo ABC	INFA (Quasar®670)	Verifica el desempeño de la mezcla maestra	+	+	+	+
	INFB (CF®560)					
	SARS-CoV-2 (FAM™)					
	RNasaP (CF®610)					
Control Sin Formato	Mezcla Maestra + Agua	Verifica que los reactivos están libres de contaminación	-	-	-	-

➤ Si el control pasa, interprete los resultados de la muestra.

8.4.2 Corrida de Prueba de Diagnóstico Inválida

Si cualquiera de los controles falla, la prueba es inválida. Documente la corrida e inicie la resolución de problemas.

Si el Control Interno Positivo (RNasaP) falla, se debe iniciar una investigación para eliminar cualquier posible salpicadura, error de pipetas o cualquier otro error de laboratorio.

8.5 Interpretación de resultados

Una vez que los controles hayan pasado, las muestras desconocidas pueden ser interpretadas en base a los siguientes tres resultados posibles:

- Positivo
- Negativo
- Inválido

Un resultado **Positivo** mostrará una curva de amplificación o un valor de umbral del ciclo para la Influenza A (INF A), Influenza B (INF B), o SARS-CoV-2 en o menor a 40 ciclos. Las curvas de amplificación mayores a 40 ciclos para los objetivos están en una zona de incertidumbre. La presencia de una curva con un Cq en o debajo de 40 ciclos para una muestra de INF A, INF B y / o COVID-19, indica un resultado positivo. La amplificación del canal de la RNasaP (IPC) muestra que la extracción fue exitosa.

Un resultado **Negativo** no mostrará ninguna amplificación para la Influenza A (INF A), Influenza B (INF B), o SARS-CoV-2 en o menor a 40 ciclo; ocasionalmente ocurren amplificaciones mayores a 40 ciclos que pueden ocurrir en cualquiera de los canales. Cualquier curva de amplificación mayor a 40 ciclos está en una zona de incertidumbre y posiblemente debajo del límite de detección. Una nueva corrida de la misma muestra o una corrida de otra muestra del paciente en los siguientes días debe considerarse. La ausencia de una curva para la INF A, INF B o SARS-CoV-2 indica un resultado negativo ÚNICAMENTE cuando el marcador RNasaP (IPC) es positivo.

Un resultado **Inválido** ocurrirá si cualquiera de los controles falla. Vea la resolución de problemas.

La interpretación de los resultados con valores Ct puede traducirse según Tabla 8.

Tabla 8

Interpretación de Resultados para Logix Smart ABC

	SARS-CoV-2	Influenza a A	Influenza a B	Control Interno Positivo del Paciente (RNaseP)	Control Positivo Logix Smart™ ABC	Control Sin Formato (NTC): Mezcla Maestra Logix Smart™ ABC + Agua Libre de Nucleasas	Resultado	
Lectura del Instrumento	+	+	+	+	+	-	ABC +	
	-	-	-	+	+	-	ABC -	
	+	-	-	+	+	-	SARS-CoV-2 + INF A - INF B -	
	-	+	-	+	+	-	SARS-CoV-2 - INF A + INF B -	
	-	-	+	+	+	-	SARS-CoV-2 - INF A - INF B +	
	+	+	-	+	+	-	SARS-CoV-2 + INF A + INF B -	
	-	+	+	+	+	-	SARS-CoV-2 - INF A + INF B +	
	+	-	+	+	+	-	SARS-CoV-2 + INF A - INF B +	
	Cualquier Resultado (+/-)				-	+	-	INVÁLIDO Vea la Resolución de Problemas
					+	-	-	
					+	+	+	

Cualquier cosa antes de los 40 ciclos es considerado una lectura positiva (+). Cualquier cosa después de 40 ciclos es considerado una lectura negativa (-). Cuando sea posible, siempre revise que el historial médico y / o síntomas vayan en conjunto con el resultado antes del tratamiento.

9 RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Co-Diagnostics Inc. valora la retroalimentación de los clientes y quiere estar informado de cualquier problema con el kit **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** incluso si los pasos recomendados para la resolución de problemas resuelven el problema. Para dar retroalimentación por favor llene el Formulario de Retroalimentación del Cliente al visitar la página <https://co-dx.com/contact/feedback/>

9.1 Estabilidad

Los estudios de tiempo real y vida útil acelerada y estabilidad en uso están actualmente bajo pruebas. Actualmente, la fecha de vencimiento de este producto ha sido establecido a 12 meses.

Siempre use la versión más reciente de este documento para actualizaciones cuando se agreguen más información de estabilidad cuando se completen los estudios.

9.2 Errores de usuario

La Prueba de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) es una técnica que usa el ciclo de temperaturas, y una polimerasa de ADN para poder amplificar una sola o unas cuantas copias de un segmento de ADN o ARN. Las Buenas Prácticas de Laboratorios para Diagnósticos de Biología Molecular (Viana & Wallis, 2011) son necesarias para el uso de este producto. Este producto no tiene la intención de ser usado por personal sin entrenamiento.

El usuario debe tener experiencia en biología molecular y estar familiarizado con las técnicas adecuadas en el uso de pipetas para prevenir errores, tales como salpicaduras, contaminación cruzada, y errores en la selección de volúmenes. Las puntas de las pipetas deben ser reemplazadas después de cada uso de las pipetas. Los guantes deben reemplazarse frecuentemente. El equipo debe tener la calibración al día para las pipetas y termocicladores, cuando aplique.

Noventa minutos de entrenamiento en línea para las Buenas Prácticas de Laboratorios para las Pruebas de Genética Molecular (CDC, 2017)) están disponibles en la página web de la CDC en el siguiente vínculo <https://www.cdc.gov/labtraining/training-courses/good-lab-practices-molecular-genetics-testing.html>

9.3 Resultados inválidos

9.3.1 El Control Positivo de Logix Smart ABC no está amplificando

La falta de amplificación del control positivo puede ser el resultado de uno o múltiples factores tales como:

- Errores por el uso de pipetas (colocar el control en el espacio incorrecto, haga falta un espacio, colocando la cantidad inadecuada del reactivo),
- Colocación incorrecta de los platos o tubos en el instrumento PCR en tiempo real,
- La degradación de la **Mezcla Maestra Logix Smart ABC** o de la **Prueba de Control Positiva Logix Smart ABC** (el resultado de que los reactivos se encuentren a temperaturas superiores a los -20°C por un periodo extendido de tiempo),
- Uso de reactivos vencidos,
- O se usaron los reactivos incorrectos.

Sin más evidencia, la corrida debe ser considerada como inválida y el usuario debe volver a probar a través de re-amplificación. Si el control positivo vuelve a fallar, entonces se debe realizar una investigación para identificar las posibles causas de error y dependiendo de los resultados de investigación y los riesgos identificados en el proceso, es posible que se deba extraer nuevamente una muestra del paciente. Si hay falla en el control positivo por una tercera vez después de la re-extracción y re-amplificación entonces abra un nuevo **Control Positivo Logix Smart ABC** o **Mezcla Maestra** y vuelva a hacer la prueba. Si sigue fallando, por favor contacte al soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 02 o visitando la página www.co-dx.com/contact/.

9.3.2 RNasaP (IPC) no está amplificando en las muestras de los pacientes

La falta de amplificación del canal RNasaP puede ser el resultado de uno o múltiples factores, tales como:

- No hay suficiente material nuclear en la muestra,
- Los inhibidores PCR tales como: etanol y heparina
- La extracción fue realizada incorrectamente
- O el kit de extracción usado no es compatible o tiene un paso que elimina el ADN RNasaP
- El origen de la muestra no es compatible con la prueba que se tiene la intención de usar.

Nota: Una amplificación Positiva en cualquiera de los canales objetivo indica un resultado positivo a pesar de la falta de la amplificación concurrente del canal IPC. El IPC en los kits de prueba Co-Diagnostics pueden variar debido a la aplicación de la prueba. En la mayoría de casos, la amplificación es dependiente de la presencia del ADN del genoma humano (gDNA) en la muestra extraída, el

monto el cual es gobernado por tipo de muestra del paciente y el procedimiento de extracción utilizado. Las muestras obtenidas del cultivo o sitios estériles / puros (es decir, CSF, orina, lisados celulares, etc.) pueden no contener el gene de RNasaP.

Si el IPC (Canal CF610) muestra un resultado negativo mientras que el canal o canales objetivos muestran un resultado positivo, se debe iniciar una investigación interna.

En la investigación, los dos posibles escenarios deben ser evaluados:

- El resultado positivo para el canal o canales INF A, INF B y / o SARS-CoV-2 es un verdadero positivo mientras que el IPC sea negativo debido a la falta de gen humano de RNasaP en la muestra (ausencia de células humanas en la muestra).
- La amplificación para el canal o canales INF A, INF B y / o SARS-CoV-2 es un negativo falso mientras que el IPC (Canal CF610) es negativo debido a errores en la prueba / humanos potencialmente causando mezclas durante la colocación de platos y pipetas, anomalías de refracción en la solución o cualquier otra causa de positivos falsos.

Fallar en cualquiera de los controles puede indicar que la extracción de la muestra o la recolección de la muestra ha fallado. En este escenario, una nueva extracción debe realizarse, si el IPC persiste siendo negativo con un resultado negativo en el canal INF A, INF B y SARS-CoV-2, el resultado debe ser resultado como INVÁLIDO con una solicitud de “SE REQUIERE DE UNA NUEVA RECOLECCIÓN DE MUESTRA”.

Si la causa del error no está claro, contacte al soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 02 o contactándonos en la página www.co-dx.com/contact/.

9.3.3 El control sin formato está mostrando amplificación

- La amplificación de INF A, INF B, y / o SARS-CoV-2 en el Control sin Formato (NTC) indica la contaminación en uno o más de los reactivos, colocación incorrecta del plato o tubo en el instrumento PCR en tiempo real, o errores de uso de pipetas.
- Los resultados deben ser interpretados como inválidos y deben realizarse las pruebas nuevamente a través de re-amplificación. Si el NTC falla nuevamente, entonces una investigación debe realizarse para poder identificar posibles causas de error, y la prueba debe ser reprocesada de extracción o no, dependiendo en los resultados de la investigación y riesgos identificados en el proceso. Si la falla de la NTC, después de la re-extracción y re-amplificación, ocurre por una

tercera vez, abra otra agua libre de nucleasas y pruebe nuevamente. Si sigue fallando, la corrida debe considerarse como inválida. Por favor contacte al soporte técnico de Co-Diagnostics Inc. llamando al 801-438-1036 ext. 02 o visitando la página www.co-dx.com/contact/.

10 LIMITACIONES

- Cumplimiento estricto con este documento es requerido para resultados óptimos. Por favor, siempre use la versión más reciente de este documento. El mismo se puede descargar gratis en la página; <http://co-dx.com/resources/instructions-for-use/>
- El uso de este producto debe estar limitado a personal entrenado e instruido en técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos IVD.
- Las buenas prácticas de laboratorio son esenciales para el desempeño adecuado de este ensayo. También se recomienda que al momento de recibir los reactivos, se realice una prueba de ensayo para revisar la integridad y el desempeño de los reactivos antes de probar en las muestras de los pacientes.
- Los procedimientos adecuados de colección, transporte, almacenamiento y procesamiento son requeridos para resultados óptimos.
- No use los componentes del kit **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** directamente en los especímenes recolectados. Realice una extracción apropiada de ácido nucleico antes de usar este ensayo.
- La presencia de inhibidores PCR pueden causar negativos falsos o resultados inválidos.
- Las mutaciones potenciales de las regiones objetivo del genoma del SARS-COV-2 cubiertas por esta prueba pueden resultar en la falla de detectar la presencia de los patógenos.
- Tal como cualquier prueba diagnóstica, los resultados para el kit **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** deben ser interpretados con consideración a todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

11 EVALUACIÓN ANALÍTICA

11.1 Precisión

La precisión se realizó durante 5 días con 2 corridas, realizadas en turnos, un día con 2 máquinas y dos técnicos. Las muestras se prepararon añadiendo controles de ARN genómico viral extraído de Influenza A, Influenza B y / o SARS-CoV-2 Amplirun (Vircell) en una matriz clínica negativa confirmada (saliva recolectada con SDNA-1000 Saliva Collection Device – Dispositivo de Recolección de Saliva (Spectrum Solutions (Utah, Estados Unidos)), Catálogo # SDNA-1000). Las concentraciones para las concentraciones 'normales' y 'bajas' se basan en el LoD y las tasas de

detección de ~ 99% y 95%, respectivamente. La diferencia en el Cq promedio total y el Cq promedio cada uno día debe ser menor o igual a 2.0 ciclos, con una varianza menor al 5%, y debe haber al menos una tasa de detección del 95% para todos los marcadores. Los resultados se han encontrado dentro de los criterios de aceptación sin cambio en el ciclo superior a 2.0 ciclos entre días, máquinas y operadores, la detección estuvo dentro de al menos el 95% y el coeficiente de varianza fue menor al 5%.

Consulte Tabla 9 para resultados de precisión combinada para el Logix Smart ABC.

Tabla 9

Resultados de Precisión Combinada para el Logix Smart ABC

	Cq Promedio	SD	Velocidad de Llamado	CV%	Tasa de Detección del Marcador (%)
Canal Rojo					
INF A [Normal]	34.21	0.61	20/20	1.79	100%
INF A [Bajo]	34.99	0.68	20/20	1.95	100%
Combinado [Normal]	33.90	0.61	20/20	1.80	100%
Combinado [Bajo]	34.55	0.81	19/20	2.34	95%
Canal Amarillo					
INF B [Normal]	29.76	0.50	20/20	1.67	100%
INF B [Bajo]	30.07	0.53	20/20	1.76	100%
Combinado [Normal]	29.58	0.50	20/20	1.71	100%
Combinado [Bajo]	29.92	0.55	19/20	1.84	95%
Canal Verde					
COVID [Normal]	33.25	0.59	20/20	1.77	100%
COVID [Bajo]	33.96	0.62	19/20	1.81	95%
Combinado [Normal]	33.48	0.46	20/20	1.37	100%
Combinado [Bajo]	33.65	0.49	20/20	1.45	100%

11.2 Límite de detección (LoD) – sensibilidad analítica

El Límite de Detección (LoD) es la concentración más baja del analito que se detecta a una tasa no menor del 95%. El experimento fue realizado utilizando muestras artificiales al añadiendo material de referencia en una matriz clínica confirmada. Para la preparación de muestras artificiales, se utilizó el siguiente material de referencia:

- Influenza A: cepa A/New Caledonia/20/1999 (H1N1) (BEI Resources, catálogo # NR-41799);
- Virus Influenza B: cepa B/Malasia/2506/2004 (BEI Resources, catálogo # NR-12280);
- SARS-CoV-2: Coronavirus 2 Relacionado con SARS, un Aislado USA-WA1/2020, Irradiado en Gama (BEI Resources, número de catálogo NR-52287).

La saliva negativa confirmada utilizada para la matriz negativa fue recolectada con el Dispositivo de Recolección de Saliva SDNA-1000 (Spectrum Solutions (Utah, Estados Unidos), Catálogo # SDNA-1000). Esta matriz negativa se añadió después del paso de lisis del protocolo de extracción del fabricante del Mini kit QIAamp Viral RNA (Qiagen, CAT # 52906), utilizando un volumen de entrada de 200 µL y un volumen de elución de 60 µL. Después del proceso de extracción, los extractos se probaron siguiendo el protocolo Logix Smart ABC. Se realizó un experimento preliminar de LoD usando diferentes diluciones con el LoD calculado por análisis probit. Una vez que se determinó el rango de LoD, la concentración de LoD se confirmó en diferentes termocicladores con 20 réplicas de muestras individuales. La concentración de LoD se confirmó con termociclador CoDx Box (Co-Diagnostics, Inc.) en saliva y esputo (como el peor de los casos para la muestra de las vías respiratorias superiores e inferiores), y se confirmó con saliva con CFX96 (Bio-Rad), Eco48 (PCRmax / Cole-Parmer) y Mic qPCR Cyler (Biomolecular Systems). La tasa de detección se determinó en **571.30 CEID₅₀ / mL** o **0.57 CEID₅₀ / µL** para Influenza A, **60.0 CEID₅₀ / mL** o **0.06 CEID₅₀ / µL** para Influenza B, y **1.0x10³ copias / mL** para SARS-CoV-2 ha sido de al menos 95 % en todas las máquinas.

Consulte Tabla 10 para verificación del LoD.

Tabla 10

Verificación del LoD

Verificación LoD de Saliva con el Termociclador CoDx Box (Co-Diagnostics)			
	INF A (0.57 CEID₅₀/μL)	INF B (0.06 CEID₅₀/μL)	SARS-CoV-2 (1.00x10³ Copias/mL)
# Detectados	19	20	20
# Muestras	20	20	20
Tasa de Detección (%)	95	100	100
Ct Prom.	35.74	35.21	34.81
Verificación LoD de Espujo con el Termociclador CoDx Box (Co-Diagnostics)			
	INF A (0.57 CEID₅₀/μL)	INF B (0.06 CEID₅₀/μL)	SARS-CoV-2 (1.00x10³ Copias/mL)
# Detectados	20	19	20
# Muestras	20	20	20
Tasa de Detección (%)	100	95	100
Ct Prom.	36.00	34.76	35.50
Verificación LoD de Saliva con CFX96 (Bio-Rad)			
	INF A (0.57 CEID₅₀/μL)	INF B (0.06 CEID₅₀/μL)	SARS-CoV-2 (1.00x10³ Copias/mL)
# Detectados	20	20	20
# Muestras	20	20	20
Tasa de Detección (%)	100	100	100
Ct Prom.	38.25	37.41	37.70
Verificación LoD de Saliva con Eco48 (PCRmax/Cole-Parmer)			
	INF A (0.57 CEID₅₀/μL)	INF B (0.06 CEID₅₀/μL)	SARS-CoV-2 (1.00x10³ Copias/mL)
# Detectados	19	19	19
# Muestras	20	20	20
Tasa de Detección (%)	95	95	95
Ct Prom.	38.65	38.44	38.19
Verificación LoD de Saliva con Ciclador Mic qPCR (Biomolecular Systems)			
	INF A (0.57 CEID₅₀/μL)	INF B (0.06 CEID₅₀/μL)	SARS-CoV-2 (1.00x10³ Copias/mL)
# Detectados	19	20	20
# Muestras	20	20	20
Tasa de Detección (%)	95	100	100
Ct Prom.	35.88	34.82	36.93

11.3 Especificidad analítica – inclusividad

11.3.1 Inclusividad In silico para SARS-CoV-2

Una alineación se realizó con secuencias de CoPrimer (Co-Cebadores) oligonucleótidos de los CoPrimers (Co-Cebadores) del COVID-19 con todas las secuencias de ácidos nucleicos públicamente disponibles para el SARS-CoV-2 en GenBank, al igual que la base de datos de la GISAID para demostrar la inclusividad predicha de la Prueba Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2).

Co-Diagnostics ha estado realizando revisiones consistentes de la alineación de la secuencia para monitorear la conservación de la secuencia al analizar los datos genómicos de mutación filogénica halados de NextStrain de la base de datos GISAID. La primera alineación se realizó el 4 de Feb del 2020, con consultas posteriores realizadas en Marzo, Abril, Mayo y Junio; Julio, Agosto, Septiembre y Octubre. Se muestran resultados parciales y acumulados. Las secuencias fueron obtenidas de la página <https://github.com/nextstrain/ncov/blob/master/data/metadata.tsv>. Consulte Tabla 11 para historial de análisis in silico.

Tabla 11

Historial de análisis in silico

Fecha del Análisis CoDx para el <u>Marcador RdRp</u>	Muestras analizadas de SARS-CoV-2 (número de secuencias en la submuestra analizada)	Secuencias en la totalidad con homología del 100%	Eventos de mutación simple de nucleótidos: Secuencias con <u>1 discordancia</u> en el objetivo CoDx (homología del 98%)	Eventos de mutación doble de nucleótidos: Secuencias con <u>+ de 2 discordancias</u> en el objetivo CoDx (homología del 95%)	Eventos de mutación múltiple de nucleótidos con <u>+ de 3 discordancias</u> en el objetivo CoDx (homología <95%)
27-Ene-20	14	14 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
4-Feb-20	53	53 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
17-Mar-20	571	570 (99.8%)	1 (0.2%)	0 (0%)	0 (0%)
6-Abr-20	3639	3634 (99.86%)	5 (0.14%)	0 (0%)	0 (0%)
4-May-20	4468	4459 (99.80%)	9 (0.2%)	0 (0%)	0 (0%)
3-Jun-20	4558	4537 (99.54%)	21 (0.46%)	0 (0%)	0 (0%)
6-Jul-20	11361	11328 (99.71%)	33 (0.29%)	0 (0%)	0 (0%)
10-Ago-20	22054	22012 (99.81%)	42 (0.19%)	0 (0%)	0 (0%)
9-Sep-20	4417	4394 (99.48%)	23 (0.52%)	0 (0%)	0 (0%)
12-Oct-20	5139	5114 (99.51%)	25 (0.49%)	0 (0%)	0 (0%)
Fecha del Análisis CoDx para el <u>Marcador gen E</u>	Muestras analizadas de SARS-CoV-2 (número de secuencias en la submuestra analizada)	Secuencias en la totalidad con homología del 100%	Eventos de mutación simple de nucleótidos: Secuencias con <u>1 discordancia</u> en el objetivo CoDx (homología del 98%)	Eventos de mutación doble de nucleótidos: Secuencias con <u>+ de 2 discordancias</u> en el objetivo CoDx (homología del 95%)	Eventos de mutación múltiple de nucleótidos con <u>+ de 3 discordancias</u> en el objetivo CoDx (homología <95%)
27-Ene-20	14	14 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
4-Feb-20	53	53 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
9-Sep-20	4417	4400 (99.62%)	14 (0.32%)	2 (0.05%)	1 (0.2%)
12-Oct-20	5139	5126 (99.96%)	11 (0.21%)	0 (0%)	2 (0.04%)

Se espera que cada marcador en Logix Smart ABC detecte cepas con una sola discordancia sin dificultad. En 2 discordancias, se espera que cada marcador en Logix Smart ABC detecte con un retraso de Cq significativo. Se espera que los eventos de más de 3 discordancias no den lugar a la detección por parte de ese marcador. Para mantener la sensibilidad esperada del 99% + para ambos marcadores, el 99% + de las secuencias muestreadas deben mantener menos de tres desajustes en cualquiera de los marcadores. Para mantener la sensibilidad esperada del 99% + para cualquiera de los marcadores, el 99% + de las secuencias muestreadas debería mantener <3 discordancias en ambos marcadores.

Los datos de alineación y los análisis actualizados posteriores han mostrado menos de tres desajustes para los CoPrimers directos e inversos en el 100% de las secuencias para el marcador RdRp y el 99,96% de las secuencias para el marcador Gen E en el Submuestreo Global NextStrain de la base de datos GISAID. Por lo tanto, hay una predicción de ~ 0.04% de resultados falsos negativos para el marcador Gen E solo y ninguna predicción de resultados falsos negativos para ambos marcadores juntos en base a los datos disponibles.

11.3.2 Inclusividad In silico para Influenza A/B

Se realizó una alineación con las secuencias de oligonucleótidos CoPrimer de los conjuntos CoPrimer de Influenza A e Influenza B con todas las secuencias de la Base de Datos de Investigación de Influenza (restringida a huéspedes humanos) según la fecha del 02-Jul-2020 (Influenza A) y el 21-Jul-2020 (Influenza B) para demostrar la inclusividad prevista del Logix Smart ABC (Influenza A / B, SARS-CoV-2). Consulte Tabla 12 para historial de análisis In silico para Influenza A e Influenza B.

Tabla 12

Historial de análisis In Silico para Influenza A e Influenza B

Fecha del Análisis CoDx para Influenza A Marcador gen M	Conjunto de CoPrimer	Influenza A (número de secuencias en la submuestra analizada)	Secuencias en la totalidad con homología del 100%	Eventos de mutación simple de nucleótidos: Secuencias con <u>1 discordancia</u> en el objetivo CoDx (homología del 98%)	Eventos de mutación doble de nucleótidos: Secuencias con <u>+ de 2 discordancias</u> en el objetivo CoDx (homología del 95%)	Eventos de mutación múltiple de nucleótidos con <u>+ de 3 discordancias</u> en el objetivo CoDx (homología <95%)
02-Jul-20	Frontal	41,352	40,851 (98.79%)	488 (1.18%)	13 (0.03%)	0 (0%)
02-Jul-20	Reverso	41,352	38,763 (93.74%)	2,449 (5.92%)	133 (0.32%)	7 (0.02%)
Fecha del Análisis CoDx para Influenza B Marcador gen NS	Conjunto de CoPrimer	Influenza B (número de secuencias en la submuestra analizada)	Secuencias en la totalidad con homología del 100%	Eventos de mutación simple de nucleótidos: Secuencias con <u>1 discordancia</u> en el objetivo CoDx (homología del 98%)	Eventos de mutación doble de nucleótidos: Secuencias con <u>+ de 2 discordancias</u> en el objetivo CoDx (homología del 95%)	Eventos de mutación múltiple de nucleótidos con <u>+ de 3 discordancias</u> en el objetivo CoDx (homología <95%)
21-Jul-20	Frontal	12,385	11,764 (94.99%)	616 (4.97%)	5 (0.04%)	0 (0%)
21-Jul-20	Reverso	12,385	12,155 (98.14%)	224 (1.81%)	6 (0.05%)	0 (0%)

El análisis in silico predice que se espera que el marcador de Influenza A de Logix Smart ABC detecte >99.66% de los marcadores de Influenza A secuenciados disponibles y se espera que los marcadores de Influenza B detecten > 99.91% de los marcadores de Influenza B secuenciados disponibles. Se encontró este límite inferior sumando el número total de secuencias que podrían tener + de 3 discordancias combinadas en el frontal y el reverso asumiendo el número máximo posible de discordancias en el CoPrimer opuesto. El número real de combinaciones será menor y, por lo tanto, el porcentaje de cepas que se espera que se detecten con éxito es mayor que los números citados anteriormente.

11.3.3 Inclusividad de prueba húmeda para SARS-CoV-2 e Influenza A

Se realizaron pruebas húmedas de inclusividad para confirmar que Logix Smart ABC es capaz de detectar múltiples cepas / aislamientos de los objetivos. La prueba se realizó agregando extracto de saliva negativo a 9x, 3x y 1x LoD, ejecutado por cuadruplicado. Debido a la falta de material de referencia disponible, la prueba húmeda de inclusividad de Influenza B no se ha realizado en este momento. Consulte Tabla 13 para los resultados.

Tabla 13

Resultados de Pruebas de Inclusividad de Logix Smart ABC

SARS-CoV-2					
Cepa / Aislado	Concentración	# Detectado	# Muestras	Tasa de Detección (%)	Ct Prom.
Aislado Español	9x LoD	4	4	100.00	32.84
	3x LoD	4	4	100.00	34.46
	1x LoD	4	4	100.00	37.31
Alemania/BavPat1/2020	9x LoD	4	4	100.00	34.98
	3x LoD	4	4	100.00	36.44
	1x LoD	2	4	50.00	35.67
Italia-INMI1	9x LoD	4	4	100.00	32.17
	3x LoD	4	4	100.00	33.62
	1x LoD	4	4	100.00	35.95
Influenza A					
Cepa / Aislado	Concentración	# Detectado	# Muestras	Tasa de Detección (%)	Ct Prom.
H1 (A/Brisbane/59/2007)	9x LoD	4	4	100.00	35.54
	3x LoD	4	4	100.00	36.06
	1x LoD	2	4	50.00	37.41
H3 (A/Perth/16/2009)	9x LoD	4	4	100.00	33.49
	3x LoD	4	4	100.00	35.08
	1x LoD	3	4	75.00	36.94

11.4 Especificidad analítica – reactividad cruzada – exclusividad

11.4.1 Reactividad cruzada in silico para SARS-CoV-2

Las consultas de Análisis *in silico* y BLASTn de los CoPrimers (Co-Cebadores) del SARS-CoV-2, fueron realizados en contra de secuencias de nucleótidos del dominio público. Los parámetros de la búsqueda de la búsqueda fueron los siguientes: 1) La recolección de nucleótidos consiste de secuencias GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + RefSeq, pero excluye EST, STS, GSS, WGS, TSA, secuencias patentadas al igual que secuencias fase 0, 1 y 2 HTGS y secuencias mayores a 100Mb; 2) La base de datos es no

redundante. Las secuencias idénticas han sido combinadas en un solo ingreso, mientras que se preserva el acceso, GI, título e información taxonómica de cada entrada; 3) La base de datos es revisada consistentemente para detectar posibles mutaciones en la región objetivo; 4) Los parámetros de la búsqueda se ajustan automáticamente para secuencias de ingreso cortas y se espera que el umbral sea de 1000; 5) Las calificaciones de concordancia y discordancia son de 1 y -3 respectivamente, 6) la penalidad para crear y extender una brecha en el alineamiento es de 5 y 2 respectivamente. 7) BLASTn fue corrido individualmente para cada organismo solicitado anotado en la Tabla 14, la lista contiene a los microorganismos relevantes a las infecciones respiratorias presentes en la parte bucal y en las muestras.

Se espera que el marcador del gen *E* amplificará eficientemente muchas cepas de tanto los coronavirus parecidos al SARS del murciélago al igual que el SARS-CoV. No se espera que el marcador del gen *E* vaya a amplificar de manera cruzada con otros coronavirus, la microflora humana o cualquier otro organismo que haya sido secuenciado en la base de datos NCBI.

Los CoPrimers tienen un perfil de riesgo de reactividad cruzada ligeramente diferente que los cebadores tradicionales. Debido a los bajos Tm de las secuencias de Cebador y Captura, los CoPrimers son más susceptibles a discordancias (Satterfield, 2014). Nuestros experimentos internos muestran que una sola discordancia con directo o reversa causa un retraso observable en la amplificación, causando una supresión significativa en la señal. 3+ discordancias en la directa y reversa combinadas se esperan que resulten en una amplificación no detectable.

Los resultados sugieren que el **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** no hace una reacción cruzada a cualquier organismo no objetivo que fue probado en la prueba húmeda o en el análisis *in silico*. Las muestras negativas no mostraron ninguna amplificación, por lo tanto, ningún positivo falso ocurrió debido a reactividad cruzada. Las muestras positivas en la presencia de material genético no objetivo en la mayoría de casos no redujo la habilidad de la prueba del **Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)** a producir resultados positivos.

Tabla 14

Los microorganismos incluidos en la evaluación in silico de reactividad cruzada

Patógenos de alta prioridad de la misma familia genética	Organismos de alta prioridad que probablemente se encuentran en el área circundante	Otros microorganismos de importancia
Coronavirus humano 229E	Adenovirus	Influenza C
Coronavirus humano OC43	Metapneumovirus humano (hMPV)	Parvovirus
Coronavirus humano HKU1	Virus parainfluenza 1-4	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Coronavirus humano NL63	Influenza A & B	<i>Legionella non-pneumophila</i>
SARS-coronavirus	Enterovirus	<i>Bacillus anthracis</i> (Anthrax)
MERS-coronavirus	Virus sincitial respiratorio	<i>Moraxella catarrhalis</i>
	Rinovirus	<i>Neisseria elongata</i>
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
	<i>Haemophilus Influenza</i>	Leptospirosis
	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Chlamydia psittaci</i>
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Coxiella burnetii</i> (Q-Fever)
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
	<i>Bordetella pertussis</i>	
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	
	<i>Lavado nasal humano – para representar la flora microbiano diversa en el tracto respiratorio humano</i>	
	<i>Candida albicans</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
	<i>Staphylococcus salivarius</i>	

11.4.2 Reactividad cruzada in silico para Influenza A/B

La homología significativa es definida como 3 o menos discordancias en un CoPrimer Frontal o Reverso sencillo.

1. **CoPrimer Frontal de Influenza A:**
Ninguna homología significativa se encontró con ningún organismo que no sea de Influenza A.
2. **CoPrimer Reverso de Influenza A:**
Ninguna homología significativa se encontró con ningún organismo que no sea de Influenza A..
3. **CoPrimer Frontal de Influenza B:**
Ninguna homología significativa se encontró con ningún organismo que no sea de Influenza B.
4. **CoPrimer Reverso de Influenza B:**
Ninguna homología significativa se encontró con ningún organismo que no sea de Influenza B.

No se espera que los marcadores de Influenza A o la Influenza B se vayan a amplificar de manera cruzada con ninguna otra microflora humana o cualquier otro organismo que haya sido secuenciado en la base de datos NCBI.

11.5 Exclusividad de prueba húmeda

Se realizaron pruebas húmedas de exclusividad para confirmar que **Logix Smart ABC** no reacciona de forma cruzada con organismos no objetivo. La prueba se realizó añadiendo saliva o esputo negativo, con organismos no objetivo o el genoma extraído del organismo no objetivo. Los materiales que ya se extrajeron se añadieron después de la extracción. Los organismos no objetivo se añadieron a una concentración final de 1e4 copias / rxn (1e6 copias / ml) y se procesaron por duplicado. Además, para verificar que la presencia de ADN / ARN genómico no objetivo no afecta la capacidad de detectar SARS-CoV-2, se agregaron organismos no objetivo a una concentración final de 1e4 copias / rxn (1e6 copias / mL) y los controles de ARN AMPLIRUN® para Influenza A, Influenza B y SARS-CoV-2 se agregaron a 5x LoD y se procesaron por triplicado.

Los datos generados a partir de las pruebas de especificidad-exclusividad se resumen a continuación en la Tabla 15. Según los resultados, la presencia del material genómico del organismo no objetivo no afectó significativamente la amplificación de la diana RdRp o la diana del gen *E* ≥ 2 Cq. Además, no hubo amplificación en las reacciones que incluyeron solo el organismo no objetivo, incluido el SARS-CoV-1 (2003), que ha mostrado cierta reactividad cruzada en análisis *in silico*.

Tabla 15

Pruebas de Exclusividad Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2)

	Influenza A	Influenza B	SARS-CoV-2	Muestra Negativa
Coronavirus humano OC43	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Coronavirus humano HKU1	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Coronavirus humano NL63	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
SARS-coronavirus	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
MERS-coronavirus	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Metapneumovirus humano (hMPV)	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Virus Parainfluenza 3	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Influenza A	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Influenza B	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Enterovirus (eje., EV68)	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Virus sincitial respiratorio	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Rinovirus	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Haemophilus Influenza</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Legionella pneumophila</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Bordetella pertussis</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Lavado nasal humano	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Candida albicans</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<i>Streptococcus salivarius</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo

11.6 Evidencia clínica

La evidencia clínica se estableció mediante una combinación de muestras clínicas con muestras artificiales complementarias en un total de 90 muestras aleatorias. De ellos, 30 fueron muestras clínicas positivas para SARS-CoV-2 remanentes, 30 muestras clínicas negativas, 15 muestras positivas para Influenza A artificiales y 15 muestras positivas para influenza B artificiales. Las muestras artificiales se prepararon utilizando material de referencia añadido a una matriz clínica negativa confirmada.

- Influenza A: cepa A/New Caledonia/20/1999 (H1N1) (BEI Resources, catálogo # NR-41799);
- Virus Influenza B: cepa B/Malasia/2506/2004 (BEI Resources, catálogo # NR-12280);

Las muestras artificiales se hicieron en una variedad de concentraciones de ~ 3x LoD a ~ 4000x LoD. Luego, todas las muestras se extrajeron con el mini kit de ARN viral QIAamp (Qiagen, número de catálogo 52904/52906) y se analizaron con el kit de prueba **Logix Smart ABC**. Para el ensayo de comparación, una prueba con marca CE registrada / autorizada por la EUA y otra prueba autorizada por la EUA fue un comparador para el SARS-CoV-2, para las muestras artificiales de influenza, el comparador fue un procedimiento interno. Hubo un resultado discrepante con una concordancia general del 98,89%. Los datos se resumen en la Tabla 16.

Tabla 16

Estudio clínico con resultados con 90 muestras aleatorizadas

Muestra	Llamado del Resultado	Código de Muestra	¿Resultados Iguales?	Muestra	Llamado del Resultado	Código de Muestra	¿Resultados Iguales?
1	Negativo	Negativo	Si	46	Negativo	Negativo	Si
2	Influenza B	Influenza B	Si	47	Negativo	Negativo	Si
3	Influenza B	Influenza B	Si	48	Influenza B	Influenza B	Si
4	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	49	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
5	Influenza B	Influenza B	Si	50	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
6	Negativo	Negativo	Si	51	Influenza A	Influenza A	Si
7	Negativo	Negativo	Si	52	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
8	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	53	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
9	Influenza A	Influenza A	Si	54	Influenza B	Influenza B	Si
10	Influenza A	Influenza A	Si	55	Negativo	Negativo	Si
11	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	56	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
12	Negativo	Negativo	Si	57	Influenza B	Influenza B	Si
13	Negativo	Negativo	Si	58	Influenza A	Influenza A	Si
14	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	59	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si



Muestra	Llamado del Resultado	Código de Muestra	¿Resultados Iguales?	Muestra	Llamado del Resultado	Código de Muestra	¿Resultados Iguales?
	2						
15	Influenza B	Influenza B	Si	60	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
16	Negativo	Negativo	Si	61	Influenza A	Influenza A	Si
17	Negativo	Negativo	Si	62	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
18	Negativo	Negativo	Si	63	Influenza B	Influenza B	Si
19	Influenza A	Influenza A	Si	64	Negativo	Influenza A	No
20	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	65	Influenza B	Influenza B	Si
21	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	66	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
22	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	67	Negativo	Negativo	Si
23	Negativo	Negativo	Si	68	Negativo	Negativo	Si
24	Influenza A	Influenza A	Si	69	Influenza A	Influenza A	Si
25	Influenza A	Influenza A	Si	70	Influenza B	Influenza B	Si
26	Influenza B	Influenza B	Si	71	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
27	Influenza A	Influenza A	Si	72	Negativo	Negativo	Si
28	Influenza B	Influenza B	Si	73	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
29	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	74	Negativo	Negativo	Si
30	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	75	Negativo	Negativo	Si
31	Influenza A	Influenza A	Si	76	Influenza A	Influenza A	Si
32	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	77	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
33	Negativo	Negativo	Si	78	Negativo	Negativo	Si
34	Negativo	Negativo	Si	79	Negativo	Negativo	Si
35	Influenza A	Influenza A	Si	80	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
36	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	81	Negativo	Negativo	Si
37	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	82	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si
38	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	83	Influenza B	Influenza B	Si
39	Negativo	Negativo	Si	84	Negativo	Negativo	Si
40	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	85	Negativo	Negativo	Si
41	Negativo	Negativo	Si	86	Negativo	SARS-CoV-2	No
42	Negativo	Negativo	Si	87	Negativo	Negativo	Si
43	Influenza B	Influenza B	Si	88	Negativo	Negativo	Si
44	Influenza A	Influenza A	Si	89	Negativo	Negativo	Si
45	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2	Si	90	Influenza B	Influenza B	Si

11.6.1 Precisión diagnóstica

El número de verdaderos positivos, falsos positivos, verdaderos negativos y falsos negativos se recopiló y se demandó para calcular la sensibilidad, especificidad, precisión, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y coeficiente de correlación de Matthews (MCC) calculado a partir de los totales. Consulte Tabla 17 para precisión diagnóstica de Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2).

Tabla 17

Precisión Diagnóstica de Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2)

Influenza A		Influenza B		SARS-CoV-2	
Verdaderos Negativos (VN)	30	Verdaderos Negativos (VN)	30	Verdaderos Negativos (VN)	30
Falsos Positivos (FP)	0	Falsos Positivos (FP)	0	Falsos Positivos (FP)	0
Verdaderos Positivos (VP)	15	Verdaderos Positivos (VP)	15	Verdaderos Positivos (VP)	30
Verdaderos Negativos (VN)	1	Verdaderos Negativos (VN)	0	Verdaderos Negativos (VN)	1
Sensibilidad	96.774	Sensibilidad	100	Sensibilidad	96.774
Especificidad	100	Especificidad	100	Especificidad	100
Precisión	0.984	Precisión	1.000	Precisión	0.984
VPP	1.000	VPP	1.000	VPP	1.000
VPN	0.968	VPN	1.000	VPN	0.968
MCC	0.953	MCC	1.000	MCC	0.953

11.7 Resumen de desempeño

Consulte Tabla 18 para resumen de desempeño para Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2)

Tabla 18

Resumen de desempeño para Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-CoV-2)

Características del Desempeño Logix Smart ABC (Influenza A/B, SARS-COV-2)			
Aplicación	Prueba PCR Multiplexada Cualitativa, detección para Influenza A, Influenza B y SARS-CoV-2		
Límite de Detección	Influenza A	Influenza B	SARS-CoV-2
		571.3 CEID ₅₀ /mL	60.0 CEID ₅₀ /mL
Sensibilidad*	96.78%	100%	96.78%
Especificidad*	100%	100%	100%
Tipo de Muestra	Muestras de las vías respiratorias inferiores (p. Ej., Lavado bronco alveolar, esputo, aspirado traqueal), muestras de las vías respiratorias superiores (p. Ej., Hisopos nasofaríngeos y orofaríngeos) y saliva		
Tiempo para detección	Aproximadamente 90 minutos, dependiendo del instrumento utilizado		
Compatibilidad de Ciclador Térmico	<ul style="list-style-type: none"> • CoDx Box (Co-Diagnostics, Inc.) • Mic cyclor (BMS, Biomolecular Systems) • ECO48 (PCR Max) • CFX96 (Bio-Rad) <p>La prueba debe funcionar con la mayor parte de los sistemas qPCR con las siguientes compatibilidades de canales:</p> <p>FAM CF560 (VIC) CF610 (ROX) Quasar 670 (Cy5)</p>		
Compatibilidad de Kit de Extracción	QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen, CAT#52904, 52906)		

* Sensibilidad basada en el estudio clínico de 30 muestras positivas clínicas retenidas, 15 Influenza A artificiales y 15 Influenza B artificiales, y 30 muestras clínicas negativas.

12 FABRICANTE Y REPRESENTANTE AUTORIZADO

**Fabricante:**

Co-Diagnostics, Inc
2401 S Foothill Dr. Ste D
Salt Lake City, UT 84109
Teléfono: +1 (801) 438-1036
Correo Electrónico: info@co-dx.com
Página Web: www.co-dx.com

**Representante autorizado:**

mdi Europa GmbH
Langenhagener Str. 71
D-30855 Hannover-Langenhagen
Alemania
Teléfono: +49 511 39 08 95 30
Correo Electrónico: info@mdi-europa.com
Página Web: www.mdi-europa.com

**R únicamente**

13 ReFERENCIAS

- CDC. (2009). *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL – Bioseguridad en los Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos) 5ta Edición*. Obtenido de los Laboratorios CDC: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>
- CDC. (2017, Oct 27). *CDC Laboratory Training: Good Laboratory Practices for Molecular Genetics Testing. (Entrenamiento de Laboratorio CDC: Prácticas para las Pruebas Genéticas Moleculares)*. Obtenido el 5 de Marzo del 2019, de la CDC del sitio: <https://www.cdc.gov/labtraining/training-courses/good-lab-practices-molecular-genetics-testing.html>
- CDC. (2020, Feb 7). *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Information for Laboratories (Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19) – Información para Laboratorios)*. Obtenido de Centros para el Control y Prevención de Enfermedades: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/processing-sputum-specimens.pdf>
- CDC. (2020, Feb 16). *Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) (Lineamientos de Bioseguridad de Laboratorios Interinos para el Manejo y Procesamiento de Especímenes Asociados con la Enfermedad del Coronavirus del 2019 (COVID-19))*. Obtenido el 15 de Septiembre del 2018, de la Organización Mundial de la Salud: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Flab-biosafety-guidelines.html
- ECDC. (2020, Jun 15). *Laboratory support for COVID-19 in the EU/EEA > Testing for SARS-CoV-2 virus (Soporte de Laboratorio para el COVID-19 en la UE / EEA >*

- Probando para el virus SARS-CoV-2*) Obtenido el 20 de Octubre del 2020, del Centro para la Prevención y Control de Enfermedades Europeo:
<https://www.ecdc.europa.eu/en/novel-coronavirus/laboratory-support>
- Poritz, M., & Ririe, K. (2014, Mar). Getting things backwards to prevent primer dimers (Obteniendo las cosas al revés par aprevenir dímeros cebadores). *Journal of Molecular Diagnosis*, 159-62. doi:10.1016/j.jmoldx.2014.01.001
- Satterfield, B. (2014, Mar). Cooperative primers: 2.5 million-fold improvement in the reduction of nonspecific amplification. (Cebadores cooperativos: Mejoras de 2.5 millones de veces en la reducción de la amplificación no específica). *Journal of Molecular Diagnosis*, 163-73. doi:10.1016/j.jmoldx.2013.10.004
- Viana, R. V., & Wallis, C. L. (2011). Good Clinical Laboratory Practices (GLCP) for Molecular Based Tests Used in Diagnostic Laboratories. (Buenas Prácticas Clínicas del Laboratorio para Pruebas Moleculares Usadas en Laboratorios Diagnósticos). In D. I. Akyar, *Wide Spectra of Quality Control (Espectro Amplio del Control de Calidad)* (pp. 29-52). InTech. Obtenido del <http://www.intechopen.com/books/wide-spectra-of-quality-control/goodclinical-laboratory-practice-gclp-for-molecular-based-tests-used-in-diagnostic-laboratories>
- OMS. (2004). *Laboratory Biosafety Manual (Manual de Bioseguridad en el Laboratorio)*. Obtenido de "Emergencies preparedness, response" del sitio: https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

14 LEYENDA DE SÍMBOLOS DE EMPAQUE

Consulte Tabla 19 para la leyenda de símbolos de empaque.

Tabla 19

Leyenda de símbolos de empaque

Icono	Definición
	Dispositivo Médico de Diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de Catálogo
	Código de Lote
	Color de Tapa
	Componente
	Contenido / Volumen
	Número
	Usar para la fecha
	Contiene suficiente para 100 o 2,500 reacciones.
	Proteja de la luz
	Límite de Temperatura
	Consulte Instrucciones para su Uso
	Producto no estéril – no esterilice
	Fabricante
	Representante Autorizado en la Comunidad Europea
	Marcación para IV Den cumplimiento con la Directiva de la UE 98/79/EC (IVDD)