



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004849-22-8

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-004849-22-8 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones INVITROGEN ARGENTINA S.A solicita autorización para la venta de Productos para diagnóstico in vitro denominado: Nombre descriptivo: 1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions Conteniendo: 2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0 3) 966132 - TaqPath™ COVID19 Plus Control 4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer 5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™).

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización ; y que se deberá comunicar por nota al Servicio de Productos para Diagnóstico de uso In Vitro, la primera importación realizada del producto de referencia, con el objetivo de efectuar la evaluación del primer lote en el país quedando sujeta la comercialización de este a los resultados obtenidos en dicha evaluación.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorias.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Nombre descriptivo: 1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions Conteniendo: 2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0 3) 966132 - TaqPath™ COVID19 Plus Control 4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer 5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™), de acuerdo con lo solicitado por INVITROGEN ARGENTINA S.A con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-128462343-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 1569-24 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: 1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions Conteniendo: 2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0 3) 966132 - TaqPath™ COVID19 Plus Control 4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer 5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™)

Marca comercial: TaqPath™

Indicación/es de uso:

1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions: contiene los reactivos y controles para una prueba de reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real para la

detección cualitativa de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 en muestras de las vías respiratorias superiores (hisopo nasofaríngeo e hisopo nasal) de individuos con presunta COVID-19.

2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0: ensayos multiplexados que contienen conjuntos de cebadores/sondas específicas para diferentes regiones genómicas del SARS-CoV-2 y cebadores/sondas para la RNasa P.

3) 966132 - TaqPath™ COVID-19 Plus Control: control in vitro de ARN transcrito que contiene plantillas específicas para las regiones del SARS-CoV-2 y la RNasa P a las que se dirigen los ensayos.

4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer: tampón de dilución para el control.

5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™): mezcla de PCR lista para usar, que incluye polimerasa, dNTP, sal y tampón.

PRODUCTO INSCRIPTO EN EL CONTEXTO A LA EMERGENCIA SANITARIA POR COVID-19

Modelos:

No aplica

Forma de presentación: 1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions: Kit para 1000 (un mil) determinaciones conteniendo:

2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0: 1 tubo x 1.500 µl

3) 966132 - TaqPath™ COVID-19 Plus Control: 10 tubos x 10 µl

4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer: 10 tubos x 250 µl

5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™): 1 botella x 10 ml

Período de vida útil y condición de conservación: 1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions: 12 meses de -30 °C a -10 °C

Conteniendo:

2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0: 12 meses de -30 °C a -10 °C

3) 966132 - TaqPath™ COVID-19 Plus Control: 12 meses de -30 °C a -10 °C

4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer: 12 meses de -30 °C a -10 °C

5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™): 12 meses de -30 °C a -10 °C

Nombre del fabricante:

Life Technologies Corporation

Lugar de elaboración:

6055 Sunol Boulevard

Pleasanton CA 94566

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-004849-22-8

N° Identificador Trámite: 40771

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2022.12.12 23:02:53 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.12.12 23:02:59 -03:00

TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0

INSTRUCCIONES DE USO

Prueba de RT-PCR en tiempo real multiplexada para la detección cualitativa de ácidos nucleicos del SARS-CoV-2 y el control interno de RNasa P en un mismo pocillo de reacción.

Número de catálogo A51334

Número de publicación MAN0025475

Revisión A.0



Para utilización en diagnóstico in vitro.

ThermoFisher
SCIENTIFIC

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Jen'.



Life Technologies Corporation |
6055 Sunol Blvd |
Pleasanton, California 94566 USA



Life Technologies Europe B.V.
Kwartsweg 2, 2665 NN Bleiswijk
The Netherlands

Para ver las descripciones de los símbolos de las etiquetas o la documentación de los productos, diríjase a thermofisher.com/symbols-definition.

La información incluida en esta guía está sujeta a cambios sin previo aviso.

EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD: EN LA MEDIDA DE LO ESTIPULADO POR LA LEY, THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. Y/O SUS AFILIADOS NO SE HACEN RESPONSABLES POR DAÑOS ESPECIALES, INCIDENTALES, INDIRECTOS, PUNITIVOS, MÚLTIPLES O CONSIGUIENTES EN RELACIÓN CON O DERIVADOS DE ESTE DOCUMENTO, INCLUYENDO EL USO DEL MISMO.

Traducido del inglés, del número de publicación MAN0024970 Revisión C.0.

Historial de revisiones: N.º de pub. MAN0024970 (inglés)

Revisión	Fecha	Descripción
C.0	29 de julio de 2021	<ul style="list-style-type: none">Se actualizó "Límite de detección (LdD)" en la página 41.Se incluyó un elemento de comparación en "Evaluación clínica" en la página 50.
B.0	21 de junio de 2021	<ul style="list-style-type: none">Se actualizó "Materiales necesarios no suministrados" en la página 7.Se incluyó "Estabilidad del reactivo en uso" en la página 13.Se actualizó "Recomendaciones generales para el laboratorio" en la página 9.Se actualizó "Interpretación de los resultados" en la página 38.Se actualizó "Reactividad (inclusividad)" en la página 45.
A.0	1 de junio de 2021	Nuevo documento para el lanzamiento de TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 (A51334).

MARCAS COMERCIALES: Todas las marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific y sus subsidiarias a menos que se especifique lo contrario. TaqMan es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc., y se usa con el permiso y la licencia oportunos. Afrin es una marca comercial de Bayer Healthcare LLC. NeilMed es una marca comercial de NeilMed Products, Inc. bioAllers es una marca comercial de bioAllers. Dorithricin es una marca comercial registrada de MEDICE Arzneimittel Pütter GmbH & Co. KG. Windows es una marca comercial de Microsoft Corporation. Pentium es una marca comercial de Intel Corporation.

©2021 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos los derechos reservados.

Directora Técnica y Apoderada Legal
MNY 18214
Life Sciences Solutions - Thermo Fisher Scientific
Invitrogen Argentina S.A.

Índice

■	CAPÍTULO 1	Información sobre el producto	5
		Uso previsto	5
		Descripción del producto	6
		Componentes y almacenamiento	7
		Materiales necesarios no suministrados	7
		Recomendaciones generales para el laboratorio	9
		Limitaciones del ensayo	10
		Advertencias y precauciones	11
		Muestras y controles	12
		Estabilidad del reactivo en uso	13
		Flujo de trabajo	14
■	CAPÍTULO 2	Extraer ARN	16
		Antes de empezar	16
		Configurar el instrumento	17
		Preparar las placas de procesamiento	18
		Preparar la mezcla de microesferas de unión	19
		Preparar la placa de muestras	19
		Procesar las muestras	20
■	CAPÍTULO 3	Prepare las reacciones de RT- PCR	21
		Directrices para la RT-PCR	21
		Preparar las reacciones de RT-PCR (placa de reacción de 96 pocillos)	22
		Preparar las reacciones de RT-PCR (placa de reacción de 384 pocillos)	24
■	CAPÍTULO 4	Realice la RT-PCR usando el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument (bloque de 96 pocillos, 0,2 ml)	27
		Calibración del fluorocromo para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument	27
		Transfiera el archivo de la plantilla (archivo EDT) para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument	27
		Configurar y ejecutar el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument (placas de 96 pocillos)	28

■	CAPÍTULO 5	Realice la RT-PCR usando el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos)	31
		Calibración del fluorocromo para el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument ...	31
		Transferir el archivo de la plantilla (archivo EDT) al QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos)	31
		Configurar y ejecutar el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos)	32
■	CAPÍTULO 6	Análisis y resultados	35
		Compatibilidad de software e instrumentos	35
		Conseguir el paquete de software	36
		Instalar el panel de ensayo	37
		Analizar los datos	38
		Interpretación de los resultados	38
■	CAPÍTULO 7	Características de rendimiento	41
		Límite de detección (LdD)	41
		Reactividad (inclusividad)	45
		Sustancias interferentes	46
		Reactividad cruzada	48
		Evaluación clínica	50
■	APÉNDICE A	Valores de C_t de corte para las dianas de ensayo	52
■	APÉNDICE B	Seguridad	53
		Seguridad química	54
		Seguridad biológica	55
■	APÉNDICE C	Documentación y soporte	56
		Documentación relacionada	56
		Asistencia al cliente y soporte técnico	56
		Garantía limitada del producto	57



Información sobre el producto

■ Uso previsto	5
■ Descripción del producto	6
■ Componentes y almacenamiento	7
■ Materiales necesarios no suministrados	7
■ Recomendaciones generales para el laboratorio	9
■ Limitaciones del ensayo	10
■ Advertencias y precauciones	11
■ Muestras y controles	12
■ Estabilidad del reactivo en uso	13
■ Flujo de trabajo	14

Uso previsto

El Applied Biosystems™ TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 contiene los reactivos y controles para una prueba de reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real para la detección cualitativa de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 en muestras de las vías respiratorias superiores (hisopo nasofaríngeo e hisopo nasal) de individuos con presunta COVID-19.

Los resultados sirven para identificar ARN del SARS-CoV-2. Por lo general, el ARN del SARS-CoV-2 se detecta en muestras de las vías respiratorias superiores durante la fase aguda de la infección. Los resultados no deben usarse como único fundamento de las decisiones del diagnóstico y tratamiento del paciente. Es necesario utilizar la correlación clínica con los antecedentes del paciente y otra información diagnóstica y epidemiológica para evaluar la trascendencia de los resultados a fin de ayudar al médico o al epidemiólogo a determinar el estado de la infección del paciente y el plan de tratamiento adecuado. Los resultados positivos no descartan la posible infección de origen bacteriano o la coinfección por otros virus. El agente detectado puede no ser la causa inequívoca de la enfermedad.

Los laboratorios podrían verse obligados a notificar todos los resultados positivos a las autoridades sanitarias competentes correspondientes.

Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2.

La prueba con el TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 solo debe correr a cargo de personal de laboratorio clínico formado y cualificado, específicamente instruido y formado en técnicas de procedimientos de PCR en tiempo real y diagnóstico *in vitro*.

Está previsto que el TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 se utilice para uso diagnóstico *in vitro* en un entorno de laboratorio cualificado según el tipo de muestra.

Nota: Los siguientes países requieren el marcado CE en los diagnósticos in vitro: Austria, Bélgica, Bulgaria, Croacia, Chipre, República Checa, Dinamarca, Estonia, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Italia, Letonia, Lituania, Luxemburgo, Malta, Países Bajos, Polonia, Portugal, Rumania, Eslovaquia, Eslovenia, España, Suecia, Reino Unido, Noruega, Islandia, Liechtenstein, Suiza, Turquía.

Descripción del producto

El TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 es una solución de prueba de PCR en tiempo real multiplexada que detecta el ARN del virus SARS-CoV-2 y la RNasa P en un mismo pocillo de reacción.

Cada kit incluye los siguientes componentes:

- TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0: ensayos multiplexados que contienen conjuntos de cebadores/sondas específicos para diferentes regiones genómicas del SARS-CoV-2 y cebadores/sondas para la RNasa P.
- TaqPath™ COVID-19 Plus Control: control *in vitro* de ARN transcrito que contiene plantillas específicas para las regiones del SARS-CoV-2 y la RNasa P a las que se dirigen los ensayos.
- TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer: tampón de dilución para el control.
- TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™): mezcla de PCR lista para usar, que incluye polimerasa, dNTP, sal y tampón.

El ensayo contiene conjuntos de cebadores y sondas específicos de las siguientes dianas:

- Gen N de SARS-CoV-2 N
- ORF1a de SARS-CoV-2
- ORF1b de SARS-CoV-2
- RNasa P (control de recogida de muestras humanas)

Tabla 1 Fluorocromos, inhibidores y dianas

Diana	Fluorocromo	Inhibidor
ORF1a de SARS-CoV-2	Fluorocromo FAM™	Ninguno ^[1]
Gen N de SARS-CoV-2 N	Fluorocromo VIC™	
ORF1b de SARS-CoV-2	Fluorocromo ABY™	
RNasa P	Fluorocromo JUN™	

^[1] Las sondas del TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 incluyen inhibidores QSY™, que no son fluorescentes. Seleccione «None» (Ninguno) para el Quencher (Inhibidor) en el procedimiento de configuración del instrumento (consulte página 28 o página 32).

Los resultados se analizan con el siguiente software:

- Applied Biosystems™ Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0
- El panel de ensayo adecuado para el instrumento que utiliza:
 - C19-RNaseP-CE-IVD_QS5-9602_1.0.0
 - C19-RNaseP-CE-IVD_QS7-384_1.0.0
- SAE Administrator Console Dx v1.0.0 (para funciones de seguridad y auditoría)

Para obtener más información, consulte Capítulo 6, “Análisis y resultados”.

Componentes y almacenamiento

Tabla 2 TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reacciones (n.º de cat. [A51334](#))

Componente	REF ^[1]	Cantidad	Número de referencia (referencia del tubo)	Cantidad por tubo o botella	Almacenamiento	Vida útil
TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0	A51074	1 tubo	100102656	1.500 µl	De -30 °C a -10 °C ^[2]	12 meses ^[3]
TaqPath™ COVID-19 Plus Control (1 × 10 ⁴ copias/µl)	966132	10 tubos	91-6132	10 µl	De -30 °C a -10 °C	
TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer	A51628	10 tubos	100093291	250 µl	De -30 °C a -10 °C	
TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™)	A51867	1 botella	A51867	10 ml	De -30 °C a -10 °C	

^[1] Los componentes individuales no se pueden pedir por separado.

^[2] No congele y descongele los ensayos más de 12 veces.

^[3] Desde la fecha de fabricación.

Materiales necesarios no suministrados

A menos que se indique lo contrario, todos los materiales están disponibles en thermofisher.com. «MLS» indica que el material está disponible en fisherscientific.com u otro proveedor general de productos de laboratorio.

Los números de catálogo que aparecen como vínculos abren las páginas web de esos productos.

Artículo	Origen
Instrumento de PCR en tiempo real, uno de los siguientes:	
Applied Biosystems™ QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument, bloque de 96 pocillos de 0,2 ml (usado con el QuantStudio™ Real-Time PCR Software v1.5.1)	A28569 (con ordenador portátil) A28574 (con ordenador de sobremesa) A28139 (solo instrumento)
Applied Biosystems™ QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR System, bloque de 384 pocillos (usado con el QuantStudio™ Real-Time PCR Software v1.3)	4485695 (con ordenador portátil) 4485701 (con ordenador de sobremesa)
Equipo	
Congeladores de laboratorio <ul style="list-style-type: none"> De -30 °C a -10 °C 	MLS



(cont.)

Artículo	Origen
Centrífuga, con un rotor que acepta microplacas estándar y de pocillos profundos	MLS
Microcentrífuga	MLS
Mezclador de laboratorio, mezclador vórtex o equivalente	MLS
Pipetas de un solo canal y multicanal ajustables (de 1,0 µl a 1,0 ml)	MLS
Bloque de frío (de 96 pocillos o de 384 pocillos) o hielo	MLS
Sistema y materiales de extracción de ácidos nucleicos	
KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head	5400630
KingFisher™ Flex 96 Deep-Well Heating Block	24075430
KingFisher™ 96 Deep-Well Plate	95040450, A48305, 95040455
KingFisher™ 96 tip comb for DW magnets	A48438, 97002534
Placa de 96 pocillos para el peine de puntas (tip comb), una de las siguientes:	
KingFisher™ 96 KF microplate	97002540
Tip Comb Presenting Plate for KF 96	267600
Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, Flat Bottom	167008
Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, barcoded	269787
ABgene™ 96-Well Polypropylene Storage Microplate	AB0796
ABgene™ 96-Well 1.2-mL Polypropylene Deepwell Storage Plate	AB1127
KingFisher™ 96 Deep-Well Plate	95040450, A48305, 95040455
Kits y reactivos	
MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit	A48383
Fisher BioReagents™ Ethanol, Absolute, Molecular Biology Grade ^[1] o equivalente	BP2818100, BP2818500, BP28184
Nuclease-free Water (not DEPC-Treated)	MLS
Placas de calibración (QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument)	
ABY™ Dye Spectral Calibration Plate for Multiplex qPCR, 384-well	A24736

(cont.)

Artículo	Origen
JUN™ Dye Spectral Calibration Plate for Multiplex qPCR, 384-well	A24733
Tubos, placas y otros consumibles	
MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0,2 ml	4306737 , 4326659
MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate, 0,2 ml	N8010560 , 4316813
MicroAmp™ Optical 384-Well Reaction Plate with Barcode	4309849 , 4326270 , 4343814
MicroAmp™ Optical 384-Well Reaction Plate	4343370
MicroAmp™ Clear Adhesive Film	4306311
MicroAmp™ Optical Adhesive Film	4311971 , 4360954
MicroAmp™ Adhesive Film Applicator	4333183
MicroAmp™ Optical Film Compression Pad ^[2]	4312639
Tubos de microcentrífuga sin ARNasa, antiadherentes (1,5 ml y 2,0 ml)	thermofisher.com/plastics
Puntas de pipeta estériles con barrera para aerosoles (filtrada)	thermofisher.com/pipettetips

^[1] Disponible en fisherscientific.com.

^[2] Solo es necesario para usarlo con el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument de 96 pocillos, 0,2 ml.

Recomendaciones generales para el laboratorio

Siga en su laboratorio los procedimientos operativos estándar, por ejemplo:

- Siga las directrices y requisitos de inactivación de muestras definidas por su laboratorio y los organismos reguladores locales. Si en su laboratorio se inactivan las muestras, hágalo antes de iniciar el flujo de trabajo. Es posible que algunos métodos de inactivación (como la inactivación química) afecten la calidad de las muestras principales y ocasionen desviaciones del resultado esperado.
- Para evitar la contaminación:
 - Cambie sus guantes con frecuencia.
 - Descontamine frecuentemente superficies, equipos y pipetas con lejía al 10 % (1 % v/v de hipoclorito sódico) recién preparada o solución de descontaminación, seguida por etanol al 70 %.
 - Use luz ultravioleta durante la descontaminación del armario de bioseguridad (cuando esté disponible).
- Para evitar la degradación del ARN, mantenga las muestras diluidas, master mix, ensayos y controles en hielo o en bloques de frío cuando estén en uso.
- Limite los ciclos de congelación-descongelación.

- Minimice la exposición del ensayo a la luz. Las sondas son sensibles a la luz.
- Fraccione los reactivos para evitar contaminar las soluciones madre y reducir el número de ciclos de congelación-descongelación.
- Después de cada carrera, examine las curvas de amplificación en busca de señales de agitación en vórtex o centrifugado incorrecto.
- Para garantizar el rendimiento fiable del instrumento de PCR en tiempo real, lleve a cabo el mantenimiento preventivo según las instrucciones proporcionadas por el fabricante en la documentación del instrumento (consulte la “Documentación relacionada” en la página 56).

Limitaciones del ensayo

- El rendimiento del kit se estableció usando exclusivamente muestras de hisopo nasofaríngeo y nasal. Los otros tipos de muestras, aparte de las muestras de hisopo nasofaríngeo y nasal, no deben analizarse con este ensayo.
- No se ha determinado el rendimiento clínico con todas las variantes circulantes, pero se anticipa que sea un reflejo de las variantes prevalentes en circulación en el momento y lugar de la evaluación clínica. El rendimiento al momento de la prueba puede variar en función de las variantes circulantes, incluidas las nuevas cepas emergentes de SARS-CoV-2 y su prevalencia, que es algo que cambia con el tiempo.
- Las muestras deben recogerse, transportarse y almacenarse usando los procedimientos y condiciones adecuados. La recogida, transporte o almacenamiento incorrectos de las muestras pueden reducir la capacidad del ensayo para detectar las secuencias diana.
- La inactivación química y otras sustancias y técnicas interferentes clínicamente relevantes conocidas pueden resultar en muestras principales inadecuadas e interferir con los resultados de la prueba.
- El flujo de trabajo se debe ejecutar siguiendo los métodos específicos descritos en las instrucciones de uso.
- La calidad del ARN de las muestras biológicas es esencial para la calidad de los resultados generados con este kit.
- Este kit analiza muestras consistentes en ARN purificado. La calidad del ARN recuperado de las muestras biológicas es esencial para la calidad de los resultados generados con este kit.
- El rendimiento se determinó mediante el MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit (n.º de cat. [A48383](#)). Otros métodos de purificación podrían provocar desviaciones en el resultado esperado.
- El rendimiento del ensayo se determinó con un máximo de 12 ciclos de congelación-descongelación. Aplicar más ciclos de congelación-descongelación puede ocasionar desviaciones en los resultados esperados.
- Los resultados falsos negativos pueden deberse a:
 - Recogida de muestras incorrecta
 - Degradación del ARN del SARS-CoV-2 durante el envío/almacenamiento
 - Recogida de muestras cuando ya no se puede encontrar el ARN del SARS-CoV-2 en la matriz de muestras
 - Uso de reactivos de extracción o ensayo no autorizados
 - Presencia de inhibidores de RT-PCR

- Mutación del virus SARS-CoV-2
- Incumplimiento de las instrucciones de uso
- Ausencia de muestra
- Los resultados falsos positivos pueden deberse a:
 - Contaminación cruzada durante la manipulación o preparación de muestras
 - Contaminación cruzada entre muestras de pacientes
 - Confusión entre muestras
 - Contaminación del ARN durante la manipulación del producto
- Los resultados no concluyentes pueden deberse a:
 - Muestra en concentraciones cercanas al límite de detección (LdD) de la prueba
 - Reactividad cruzada del ensayo con SARS-CoV-1
 - Otros factores
- No se han evaluado los efectos de las vacunas, terapias antivirales, antibióticos, fármacos quimioterapéuticos o inmunosupresores. El TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 no puede descartar enfermedades causadas por otros patógenos bacterianos o víricos.
- La detección de RNasa P indica la presencia de ácido nucleico humano e implica que se recogió material biológico humano y que este se extrajo y amplificó correctamente. No indica necesariamente que la muestra es de la calidad adecuada para permitir la detección del SARS-CoV-2.

Advertencias y precauciones

El flujo de trabajo del TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 debe llevarse a cabo de conformidad con los procedimientos de laboratorio seguros:

- El flujo de trabajo debe correr a cargo de personal formado y cualificado para evitar el riesgo de resultados erróneos.
- Utilice zonas separadas para la preparación de las muestras de los pacientes y los controles para evitar resultados falsos positivos.
- Las muestras y los reactivos se deben manipular debajo de una campana de flujo laminar o una cabina de seguridad biológica.
- Los resultados positivos indican la presencia de ARN del SARS-CoV-2. Al igual que en el caso de todas las pruebas de diagnóstico, los resultados pueden interpretarse junto con otra información que está a disposición del médico.
- Los resultados negativos no excluyen la posible infección por el virus SARS-CoV-2, y no deben ser el único fundamento en la toma de una decisión sobre el tratamiento del paciente.
- Los reactivos deben almacenarse y manipularse como se indica en “Componentes y almacenamiento” en la página 7.
- Las muestras y los controles se deben tratar siempre como infecciosos y/o con riesgo biológico de acuerdo con los procedimientos de seguridad del laboratorio.
- Al manipular las muestras tome todas las precauciones necesarias.
- Utilice equipo de protección personal (EPI) que cumpla las directrices actuales sobre la manipulación de muestras potencialmente infecciosas.

- Utilice siempre puntas de pipeta con barrera para aerosoles. Las puntas que se usan deben ser estériles y sin ADNasas ni ARNasas.
- No coma, beba, fume ni se aplique productos cosméticos en las áreas de trabajo.
- La calidad de la preparación de la muestra (ARN purificado) puede influir en la calidad del ensayo de PCR cuantitativa. Los laboratorios solo utilizarán el método de purificación descrito en Capítulo 2, “Extraer ARN”.
- No se permite realizar modificaciones en los reactivos del ensayo, el protocolo del ensayo ni los instrumentos.
- No use el kit después de la fecha de caducidad.
- No utilice el dispositivo de análisis si el envase está dañado.
- Deseche los residuos de conformidad con las normativas locales.
- Lea las fichas de seguridad. Las fichas de seguridad proporcionan información de seguridad importante. Para obtener información sobre la descarga de las fichas de seguridad, consulte “Asistencia al cliente y soporte técnico” en la página 56.
- Los laboratorios podrían verse obligados a notificar todos los resultados positivos para SARS-CoV-2 a las autoridades sanitarias competentes correspondientes.
- Los laboratorios deberán proteger los datos de los pacientes según las directrices del Reglamento General de Protección de Datos (GDPR).

Muestras y controles

Nota: Manipule todas las muestras y controles de conformidad con los procedimientos de laboratorio seguros.

Manipule las muestras y controles como si fueran susceptibles de transmitir agentes infecciosos.

- Las muestras de hisopo nasofaríngeo o nasal del paciente deben recogerse y almacenarse según las directrices del laboratorio.
- Es responsabilidad de los laboratorios proteger los datos de los pacientes según los requisitos del Reglamento General de Protección de Datos (GDPR).

Los controles negativo y positivo del ensayo se deben incluir y evaluar previamente para interpretar los resultados del ensayo del paciente.

Incluya los siguientes controles:

Control	Utilizado para monitorizar	Ensayos
Control positivo (TaqPath™ COVID-19 Plus Control; REF 966132)	Configuración de la reacción de RT-PCR e integridad de los reactivos	Gen N de SARS-CoV-2, ORF1a de SARS-CoV-2, ORF1b de SARS-CoV-2 y RNasa P
Control negativo	Contaminación cruzada durante la extracción de ARN y configuración de la reacción	Gen N de SARS-CoV-2, ORF1a de SARS-CoV-2, ORF1b de SARS-CoV-2 y RNasa P

Para obtener información sobre el aislamiento y la purificación de ácidos nucleicos virales de muestras de las vías respiratorias, consulte *MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit Instrucciones de uso* en la “Documentación relacionada” en la página 56.

Estabilidad del reactivo en uso

Reactivo	Información sobre la estabilidad
TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0 (referencia del tubo A51074)	Una vez descongelado, el TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0 se mantiene estable durante un máximo de 24 horas a 2 °C-8 °C. No supere los 12 ciclos de congelación/descongelación.
TaqPath™ COVID-19 Plus Control (1 × 10 ⁴ copias/μl) (referencia del tubo 966132)	Para un solo uso.
Solución de trabajo del TaqPath™ COVID-19 Plus Control (referencia 966132): dilución 1/2856	La solución de trabajo del TaqPath™ COVID-19 Plus Control se mantiene estable durante un máximo de 24 horas a 2 °C-8 °C.
TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer (referencia A51628)	Para un solo uso.

Flujo de trabajo

Flujo de trabajo del TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0

Extraiga ARN de las muestras de pacientes (consulte el Capítulo 2, Extraer ARN)

Realice la extracción de ARN automatizada mediante el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head y el MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit con un volumen de partida de la muestra de 200 µl.

Realización de RT-PCR

1. Prepare las reacciones de RT-PCR (consulte la página 21).
2. Realice la RT-PCR mediante uno de los siguientes instrumentos de PCR en tiempo real:
 - QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument, bloque de 96 pocillos, de 0,2 ml (consulte la página 28)
 - QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR System, bloque de 384 pocillos (consulte la página 32)

Analice los datos e interprete los resultados con el Pathogen Interpretive Software (consulte la Capítulo 6, Análisis y resultados)

1. Instale el panel de ensayo adecuado para el instrumento que utiliza (consulte la página 37).
2. Analice los datos (consulte la página 38).
3. Revise los resultados del control de carrera e interprete las muestras de pacientes (consulte la página 38).

El flujo de trabajo empieza con la extracción de ácidos nucleicos a partir de muestras de hisopo nasofaríngeo (HNF) o de hisopo nasal (HN) que se recogieron en medios de transporte de conformidad con los procedimientos de laboratorio adecuados.

Se aíslan y purifican los ácidos nucleicos de las muestras mediante el MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit. El aislamiento de los ácidos nucleicos se lleva a cabo mediante un proceso automatizado con el KingFisher™ Flex Purification System (KingFisher). Para obtener más información acerca del uso de este kit, consulte “Documentación relacionada” en la página 56.

Los ácidos nucleicos se retrotranscriben a ADNc y se amplifican usando el TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 y uno de los siguientes instrumentos de PCR en tiempo real:

- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument, bloque de 96 pocillos de 0,2 ml
- QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument, bloque de 384 pocillos

Durante el proceso, las sondas se hibridan a secuencias diana del SARS-CoV-2 situadas entre primers de avance y primers inversos únicos para las dianas siguientes:

- Gen N de SARS-CoV-2 N
- ORF1a de SARS-CoV-2
- ORF1b de SARS-CoV-2
- RNasa P (control de recogida de muestras humanas)

Durante la fase de extensión del ciclo de PCR, la actividad de exonucleasa 5' de la polimerasa Taq degrada la sonda, lo que causa que el fluorocromo notificador se separe del fluorocromo inhibidor y se genere una señal fluorescente. Con cada ciclo, otras moléculas de fluorocromo notificador se escinden de sus respectivas sondas, lo que aumenta la intensidad de la fluorescencia. El instrumento de PCR en tiempo real controla la intensidad de la fluorescencia de cada ciclo de PCR.

Los datos se analizan, luego se interpretan con el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0 y el panel de ensayo adecuado para su instrumento.

2

Extraer ARN

- Antes de empezar 16
- Configurar el instrumento 17
- Preparar las placas de procesamiento 18
- Preparar la mezcla de microesferas de unión 19
- Preparar la placa de muestras 19
- Procesar las muestras 20

¡IMPORTANTE! Los protocolos de extracción de ARN que aparecen en este capítulo son compatibles con muestras de las vías respiratorias superiores (hisopos nasofaríngeos o hisopos nasales).

La extracción de ARN automatizada se realiza mediante el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head, KingFisher™ Flex 96 Deep-Well Heating Block y el MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit con un volumen de partida de la muestra de 200 µl.

Antes de empezar

Nota: Durante los pasos de lavado, es posible que la Wash Solution presente partículas inertes de color blanco o marrón que floten en la solución. Esto no es un motivo de preocupación y no tiene un efecto negativo en el rendimiento.

- Determine la cantidad de reacciones necesarias a partir de la cantidad de muestras de pacientes que se van a procesar, más un control negativo por placa.
- Prepare una solución nueva de etanol al 80 %, según los procedimientos estándares del laboratorio, con Ethanol, Absolute, Molecular Biology Grade y Nuclease-free Water (not DEPC-Treated) para el número necesario de reacciones; debe ser suficiente para 1 ml por reacción, más un excedente del 10 %. Consulte “Materiales necesarios no suministrados” en la página 7.
- Marque el pocillo de control negativo en la placa.
- Etiquete el lado más corto de cada KingFisher™ 96 Deep-Well Plate (4):

Etiqueta	Número de placas
Placa de muestras	1
Lavado 1	1
Lavado 2	1
Placa de elución	1

- Etiquete el lado más corto de la KingFisher™ 96 KF microplate (1):

Etiqueta	Número de placas
Peine de puntas (tip comb)	1

Nota: Los siguientes elementos se pueden utilizar como soporte del peine de puntas (tip comb), en lugar de la KingFisher™ 96 KF microplate:

- Tip Comb Presenting Plate for KF 96
- Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, Flat Bottom
- Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, barcoded
- ABgene™ 96-Well Polypropylene Storage Microplate
- ABgene™ 96-Well 1.2-mL Polypropylene Deepwell Storage Plate
- KingFisher™ 96 Deep-Well Plate

Configurar el instrumento

1. Asegúrese de que el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head tiene configurado el KingFisher™ Flex 96 Deep-Well Heating Block.

¡IMPORTANTE! No usar el cabezal magnético y el bloque de calor adecuados produce un menor rendimiento y puede ocasionar daños al instrumento.

2. Asegúrese de descargar el programa **MVP_2Wash_200_Flex** de la página de producto MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit en www.thermofisher.com y de cargarlo en el instrumento.

Preparar las placas de procesamiento

Prepare las placas de procesamiento según la siguiente tabla. Cubra las placas con un sello temporal (como MicroAmp™ Clear Adhesive Film) y luego almacénelas a temperatura ambiente durante 1 hora mientras prepara la placa de muestras.

ID de placa	Posición de la placa	Tipo de placa	Reactivo	Volumen por pocillo
Placa de lavado 1	2	KingFisher™ 96 Deep-Well Plate	Wash Solution	500 µl
Placa de lavado 2	3		Etanol al 80 %	1000 µl
Placa de elución	4		Elution Solution	50 µl
Placa de peine de puntas (tip comb)	5	Coloque unos KingFisher™ 96 tip comb for DW magnets en una KingFisher™ 96 KF microplate		

Nota: Los siguientes elementos se pueden utilizar como soporte del peine de puntas (tip comb), en lugar de la KingFisher™ 96 KF microplate:

- Tip Comb Presenting Plate for KF 96
- Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, Flat Bottom
- Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, barcoded
- ABgene™ 96-Well Polypropylene Storage Microplate
- ABgene™ 96-Well 1.2-mL Polypropylene Deepwell Storage Plate
- KingFisher™ 96 Deep-Well Plate

Preparar la mezcla de microesferas de unión

¡ADVERTENCIA! No utilice lejía ni puntas de pipeta blanqueadas con la mezcla de microesferas de unión. La solución de unión contiene tiocianato de guanidina, que produce gas de cianuro al combinarlo con la lejía.

Prepare la cantidad necesaria de mezcla de microesferas de unión en cada día de uso.

1. Agite en un vórtex el total de las microesferas magnéticas para ácidos nucleicos a fin de garantizar que la mezcla de microesferas sea homogénea.
2. Para la cantidad de reacciones necesarias, prepare la mezcla de microesferas de unión según la siguiente tabla:

Componente	Volumen por pocillo ^[1]
Binding Solution	265 µl
Total de microesferas magnéticas para ácidos nucleicos	10 µl
Volumen total por pocillo	275 µl

^[1] Al preparar la mezcla de microesferas de unión, incluya un excedente del 10 % para usarlo con varias reacciones.

3. Mezcle bien por inversión y, a continuación, almacene a temperatura ambiente.

Preparar la placa de muestras

¡ADVERTENCIA! No utilice lejía ni puntas de pipeta blanqueadas con la mezcla de microesferas de unión. La solución de unión contiene tiocianato de guanidina, que produce gas de cianuro al combinarlo con la lejía.

1. Invierta suavemente la mezcla de microesferas de unión 5 veces para mezclarla, luego añada 275 µl a cada pocillo de muestra y al pocillo de control negativo en la placa de muestras.

Nota: Durante el pipeteo, vuelva a mezclar con frecuencia la mezcla de microesferas de unión por inversión para garantizar que la distribución de las microesferas magnéticas sea homogénea en todas las muestras o pocillos. La mezcla de microesferas de unión es viscosa, así que debe pipetearla lentamente para asegurarse de añadir la cantidad correcta. NO reutilice las puntas de pipeta para añadir la mezcla de microesferas de unión a las muestras, ya que la alta viscosidad ocasionará variaciones en los volúmenes añadidos.

2. Añada 200 µl de muestra a cada pocillo de muestras.

Nota: Cambie las puntas entre las muestras para eliminar la contaminación cruzada.

3. Añada 200 µl de Nuclease-free Water (not DEPC-Treated) al pocillo de control negativo.
4. Añada 5 µl de Proteinase K a cada pocillo con muestra en la KingFisher™ 96 Deep-Well Plate etiquetada como «Placa de muestras», incluyendo el pocillo de control negativo.

Procesar las muestras

1. Seleccione el **MVP_2Wash_200_Flex** en el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head.
2. Inicie la carrera y, a continuación, cargue las placas preparadas en la posición correspondiente cuando el instrumento se lo pida.
3. Después de que haya finalizado la carrera (aprox. 24 minutos después del inicio), quite inmediatamente la placa de elución del instrumento y, a continuación, cubra la placa con MicroAmp™ Clear Adhesive Film.

¡IMPORTANTE! Para evitar la evaporación, selle inmediatamente la placa que contiene el eluido.

Las muestras se eluyen en 50 µl de Elution Solution (consulte “Procesar las muestras” en la página 20).

4. Coloque la placa de elución sobre hielo para el uso inmediato en RT-PCR.

Nota:

- Un arrastre considerable de microesferas magnéticas puede afectar negativamente el rendimiento de la RT-PCR. Si se observa arrastre de microesferas magnéticas, vuelva a extraer una nueva alícuota de la muestra.
 - Para garantizar que el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor funcione de manera fiable, realice un mantenimiento preventivo, según las indicaciones del fabricante.
-

3

Prepare las reacciones de RT- PCR

■ Directrices para la RT-PCR	21
■ Preparar las reacciones de RT-PCR (placa de reacción de 96 pocillos)	22
■ Preparar las reacciones de RT-PCR (placa de reacción de 384 pocillos)	24

Directrices para la RT-PCR

¡IMPORTANTE!

- Prepare la placa de la carrera y manténgala sobre hielo (o un bloque de frío) hasta que se cargue en el instrumento de PCR en tiempo real.
 - Después de la preparación, procese inmediatamente la placa. Si no sigue las indicaciones, podrían degradarse las muestras de ARN.
 - Para evitar la contaminación, prepare los reactivos en una estación de trabajo de PCR o en un área sin amplicones equivalente. No use la misma pipeta de los controles para las muestras de ARN, y use siempre puntas de pipeta con barrera para aerosoles.
 - Mantenga un entorno sin ARNasas. Descontamine las superficies de forma periódica.
 - Proteja los ensayos de la luz.
 - Durante su uso, mantenga las muestras de ARN y los componentes en hielo.
 - Añada las muestras (plantillas) a las reacciones en un área designada para manipular plantillas.
 - En cada placa de la RT-PCR, incluya los siguientes controles:
 - Un control positivo
 - Un control negativo de cada carrera de extracción.
Por ejemplo, si las muestras de ARN de 4 carreras de extracción se combinan en una placa de RT-PCR en tiempo real de 384 pocillos, entonces hay que procesar 4 pocillos de control negativo en esa placa de RT-PCR en tiempo real de 384 pocillos.
-

Preparar las reacciones de RT-PCR (placa de reacción de 96 pocillos)

Si están congelados, descongele los reactivos en hielo.

1. Agite en un vórtex suavemente los reactivos y después centrifugue brevemente para recoger el líquido en el fondo del tubo.
2. Diluya en serie el TaqPath™ COVID-19 Plus Control (1×10^4 copias/ μl):
 - a. Pipetee 100 μl de TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer en un tubo de microcentrifuga y después añada 2 μl de TaqPath™ COVID-19 Plus Control. Mezcle bien y después centrifugue brevemente.
 - b. Pipetee 110 μl de TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer en un segundo tubo de microcentrifuga y después añada 2 μl de la dilución creada en el paso secundario 2a. Mezcle bien y después centrifugue brevemente.
3. Prepare la mezcla de reacción:
 - a. Para cada carrera, combine los siguientes componentes, en cantidad suficiente para el número de muestras de ARN que se va a analizar más un control positivo y un control negativo.

Todos los volúmenes incluyen un excedente del 10 %.

¡IMPORTANTE! Los volúmenes de esta tabla asumen que usted extrajo ARN de muestra usando un volumen de partida de hasta 200 μl de la muestra original.

Componente	Volumen por muestra de ARN o control	Volumen para n muestras de ARN más 2 controles	Volumen para 94 muestras de ARN más 2 controles
TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™) (4X)	6,25 μl	$6,875 \times (n + 2) \mu\text{l}$	660,0 μl
TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0	1,25 μl	$1,375 \times (n + 2) \mu\text{l}$	132,0 μl
Volumen total de la mezcla de reacción	7,5 μl	—	792,0 μl

4. Preparación de la placa de reacción:
 - a. Pipetee 7,5 μl de la mezcla de reacción preparada en el paso 3 en cada pocillo de una MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0.2 mL.
Para ver otras placas de reacción que puede utilizar, consulte “Materiales necesarios no suministrados” en la página 7.
 - b. Agite en un vórtex suavemente la placa sellada con el ARN de muestra purificada y el control negativo del procedimiento de extracción de ARN y después centrifugue brevemente para recoger el líquido en el fondo de la placa.

- c. Quite el sello de la placa que contiene el ARN de muestra purificada y el control negativo del procedimiento de extracción de ARN. Añada el ARN de muestra, el control negativo o el control positivo a cada pocillo de la placa de reacción según Tabla 3.
- d. Selle la placa por completo con MicroAmp™ Optical Adhesive Film.

¡IMPORTANTE! Cuando aplique la MicroAmp™ Optical Adhesive Film, asegúrese de que aplica la presión de forma homogénea por toda la placa y que se forma un sello hermético sobre cada uno de los pocillos individuales. Si no se hace esto, se corre el riesgo de que alguno de los pocillos no quede bien sellado, lo que podría permitir la contaminación entre pocillos durante la agitación con vórtex y la evaporación que ocurre durante la PCR.

- e. Agite la placa en un vórtex a velocidad máxima durante 10-30 segundos con presión media. Mueva la placa para asegurarse de que toda ella establece el mismo contacto con la plataforma del mezclador vórtex.

¡IMPORTANTE! Agite en un vórtex durante 10-30 segundos para garantizar una mezcla adecuada. De lo contrario, pueden producirse errores (o imprecisiones) en las determinaciones clínicas.

- f. Centrifugue la placa de reacción durante 1-2 minutos a $\geq 650 \times g$ (≥ 650 RCF) para eliminar las burbujas y recoger el líquido en el fondo de la placa de reacción.

¡IMPORTANTE! Centrifugue la placa durante 1-2 minutos para garantizar que se han eliminado las burbujas. De lo contrario, pueden producirse errores (o imprecisiones) en las determinaciones clínicas.

Tabla 3 Volúmenes de la placa de reacción

Componente	Volumen por reacción		
	Reacción de muestra de ARN	Reacción de control positivo	Reacción de control negativo
Mezcla de la reacción (procedente del paso 3)	7,5 µl	7,5 µl	7,5 µl
ARN de muestra purificada (procedente de la extracción de ARN)	17,5 µl	—	—
Control positivo (TaqPath™ COVID-19 Plus Control diluido, procedente del paso 2)	—	17,5 µl	—
Control negativo (procedente de la extracción de ARN)	—	—	17,5 µl
Volumen total	25,0 µl	25,0 µl	25,0 µl

Coloque las placas sobre hielo para su uso inmediato. Continúe inmediatamente con la RT-PCR.

Preparar las reacciones de RT-PCR (placa de reacción de 384 pocillos)

Si están congelados, descongele los reactivos en hielo.

1. Agite en un vórtex suavemente los reactivos y después centrifugue brevemente para recoger el líquido en el fondo del tubo.
2. Diluya el TaqPath™ COVID-19 Plus Control (1×10^4 copias/ μ l):
 - a. Pipetee 100 μ l de TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer en un tubo de microcentrifuga y después añada 2 μ l de TaqPath™ COVID-19 Plus Control. Mezcle bien y después centrifugue brevemente.
 - b. Pipetee 110 μ l de TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer en un segundo tubo de microcentrifuga y después añada 2 μ l de la dilución creada en el paso secundario 2a. Mezcle bien y después centrifugue brevemente.
3. Prepare la mezcla de reacción.
 - a. Para cada carrera, combine los siguientes componentes en cantidad suficiente para el número de muestras de ARN, más un control positivo por placa de reacciones de RT-PCR de 384 pocillos y un control negativo por cada carrera de extracción.
Por ejemplo, si las muestras de ARN de 4 carreras de extracción se combinan en una placa de RT-PCR de 384 pocillos, hay que procesar 4 pocillos de control negativo en esa placa de RT-PCR en tiempo real de 384 pocillos.

Todos los volúmenes incluyen un excedente del 10 %.

¡IMPORTANTE! Los volúmenes de esta tabla asumen que usted extrajo ARN de muestra usando un volumen de partida de hasta 200 μ l de la muestra original.

Componente	Volumen por muestra de ARN o control	Volumen para n muestras de ARN más 5 controles	Volumen para 379 muestras de ARN más 5 controles
TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™) (4X)	5,0 μ l	$5,5 \times (n + 5)$ μ l	2.112,0 μ l
TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0	1,0 μ l	$1,1 \times (n + 5)$ μ l	422,4 μ l
Volumen total de la mezcla de reacción	6,0 μl	—	2534,4 μl

4. Preparación de la placa de reacción:
 - a. Pipetee 6,0 μ l de la mezcla de reacción preparada en el paso 3 en cada pocillo de una MicroAmp™ Optical 384-Well Reaction Plate with Barcode.
Para ver otras placas de reacción que puede utilizar, consulte “Materiales necesarios no suministrados” en la página 7.

- b. Agite en un vórtex suavemente la placa sellada con el ARN de muestra purificada y el control negativo del procedimiento de extracción de ARN y después centrifugue brevemente para recoger el líquido en el fondo de la placa.
- c. Quite el sello de la placa que contiene el ARN de muestra purificada y el control negativo del procedimiento de extracción de ARN. Añada el ARN de muestra, el control negativo o el control positivo a cada pocillo de la placa de reacción según Tabla 4.

¡IMPORTANTE! Para evitar que las muestras se contaminen, quite el sello de una sola placa de extracción y vuelva a sellarla después de añadir las muestras a la placa de reacción de RT-PCR.

- d. Selle la placa por completo con MicroAmp™ Optical Adhesive Film.

¡IMPORTANTE! Cuando aplique la MicroAmp™ Optical Adhesive Film, asegúrese de que aplica la presión de forma homogénea por toda la placa y que se forma un sello hermético sobre cada uno de los pocillos individuales. Si no se hace esto, se corre el riesgo de que alguno de los pocillos no quede bien sellado, lo que podría permitir la contaminación entre pocillos durante la agitación con vórtex y la evaporación que ocurre durante la PCR.

- e. Agite la placa en un vórtex a velocidad máxima durante 10-30 segundos con presión media. Mueva la placa para asegurarse de que toda ella establece el mismo contacto con la plataforma del mezclador vórtex.

¡IMPORTANTE! Agite en un vórtex durante 10-30 segundos para garantizar una mezcla adecuada. De lo contrario, pueden producirse errores (o imprecisiones) en las determinaciones clínicas.

- f. Centrifugue la placa de reacción durante 1-2 minutos a $\geq 650 \times g$ (≥ 650 RCF) para eliminar las burbujas y recoger el líquido en el fondo de la placa de reacción.

¡IMPORTANTE! Centrifugue la placa durante 1-2 minutos para garantizar que se han eliminado las burbujas. De lo contrario, pueden producirse errores (o imprecisiones) en las determinaciones clínicas.

Tabla 4 Volúmenes de la placa de reacción

Componente	Volumen por reacción		
	Reacción de muestra de ARN	Reacción de control positivo	Reacción de control negativo
Mezcla de la reacción (procedente del paso 3)	6,0 µl	6,0 µl	6,0 µl
ARN de muestra purificada (procedente de la extracción de ARN)	14,0 µl	—	—
Control positivo (TaqPath™ COVID-19 Plus Control diluido, procedente del paso 2)	—	14,0 µl	—
Control negativo (procedente de la extracción de ARN)	—	—	14,0 µl
Volumen total	20,0 µl	20,0 µl	20,0 µl

Coloque la(s) placa(s) sobre hielo para su uso inmediato. Continúe inmediatamente con la RT-PCR.



Realice la RT-PCR usando el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument (bloque de 96 pocillos, 0,2 ml)

- Calibración del fluorocromo para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument 27
- Transfiera el archivo de la plantilla (archivo EDT) para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument 27
- Configurar y ejecutar el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument (placas de 96 pocillos) 28

Calibración del fluorocromo para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument

Garantiza que las calibraciones de sistemas estén actualizadas. Además, el fluorocromo ABY™ y el fluorocromo JUN™ deben calibrarse para poder usarlos con este kit. Consulte el proceso de calibración estándar en la guía de usuario del instrumento.

Transfiera el archivo de la plantilla (archivo EDT) para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument

El archivo de la plantilla (archivo EDT) contiene la configuración de la carrera del instrumento.

Está en la misma carpeta comprimida que el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0. La carpeta es RNaseP_2.0_CE-IVD_QS5_96_0.2mL_AssayPanel_Template.

El archivo de la plantilla debe transferirse con una unidad USB u otro método al ordenador en el que está instalado el QuantStudio™ Design and Analysis Desktop Software v1.5.1.

¡IMPORTANTE! Tenga cuidado de seleccionar el archivo de plantilla apropiado para su instrumento y el tipo de bloque. De lo contrario, pueden producirse errores en el análisis.

1. Después de extraer los archivos de la carpeta comprimida, seleccione el siguiente archivo EDT:
TaqPath COVID-19 RNase P Template QS5 0_2ml da1_5_1 v1_0.edt
2. Transfiera el archivo EDT al ordenador que tiene el QuantStudio™ Design and Analysis Desktop Software v1.5.1, usando una unidad USB u otro método.

Configurar y ejecutar el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument (placas de 96 pocillos)

Para obtener más información sobre el instrumento, consulte los documentos que figuran en “Documentación relacionada” en la página 56.

Nota: Para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument, bloque de 96 pocillos, 0,2 ml, utilice los valores predeterminados del sistema para los filtros de PCR.

1. En la pantalla de inicio del QuantStudio™ Design and Analysis Desktop Software v1.5.1, en la casilla **New Experiment (Nuevo experimento)**, seleccione **Create New Experiment (Crear nuevo experimento) ▶ Template (Plantilla)**.
2. Navegue hasta el archivo EDT que ha transferido en “Transfiera el archivo de la plantilla (archivo EDT) para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument” en la página 27 y ábralo.

¡IMPORTANTE! Tenga cuidado de seleccionar el archivo de plantilla apropiado para su instrumento y el tipo de bloque. De lo contrario, pueden producirse errores en el análisis.

3. En la pestaña **Properties (Propiedades)**, introduzca o confirme lo siguiente.
 - **Name (Nombre):** Introduzca un nombre único
 - **Instrument type (Tipo de instrumento):** QuantStudio™ 5 System
 - **Block type (Tipo de bloque):** 96-Well 0.2-mL Block (Bloque de 96 pocillos de 0,2 ml)
 - **Experiment type (Tipo de experimento):** Standard Curve (Curva estándar)
 - **Chemistry (Química):** TaqMan™ Reagents (Reactivos)
 - **Run Mode (Modo de ejecución):** Standard (Estándar)
4. En la pestaña **Method (Método)**, confirme que el valor de **Volume (Volumen)** sea **25 µl**, después confirme el protocolo de ciclo térmico.

Paso	Temperatura ^[1]	Tiempo	Número de ciclos
Incubación de UNG	25 °C	2 minutos	1
Transcripción inversa	53 °C	10 minutos	1
Preincubación	85 °C	10 minutos	1
Activación	95 °C	2 minutos	1
Desnaturalización	95 °C	3 segundos	40
Hibridación/extensión	60 °C	30 segundos	

^[1] Confirme que la velocidad de rampa para cada paso es 1,6 °C por segundo.

5. En la pantalla **Plate (Placa)**, haga clic en **Quick Setup (Configuración rápida)**.
6. En el panel **Plate Attributes (Atributos de la placa)**, confirme que **Passive Reference (Referencia pasiva)** se ha establecido en **None (Ninguna)**.
7. En la pestaña **Plate (Placa)**, haga clic en **Advanced Setup (Configuración avanzada)**.

8. En la tabla **Targets (Dianas)**, confirme que las dianas, los fluorocromos notificadores y el inhibidor estén correctamente enumerados.

Nombre del gen diana	Fluorocromo notificador	Inhibidor
ORF1a	FAM	Ninguno
Gen N	VIC	
ORF1b	ABY	
RNasa P	JUN	

¡IMPORTANTE! Los nombres de las dianas distinguen entre mayúsculas y minúsculas, y deben designarse como aparece descrito.

9. Confirme que las dianas anteriores están asignadas a cada pocillo en la disposición de la placa.
10. En el panel de disposición de la placa, confirme el etiquetado de los pocillos de control.
- La plantilla contiene un control positivo (PC) y un control negativo (NC) asignados a los pocillos como referencia.
 - El control positivo tiene que llamarse **PC**. Si se incluyen caracteres adicionales, tendrá que llamarse **PC<>**, donde <> lo define el usuario, por ejemplo **PC1**.
 - El control negativo tiene que llamarse **NC**. Si se incluyen caracteres adicionales, tendrá que llamarse **NC<>**, donde <> lo define el usuario, por ejemplo **NC1**.
 - Mueva las asignaciones de los pocillos de control copiando los pocillos de control que ya existen y pegándolos de acuerdo con su ubicación en la placa física.

¡IMPORTANTE! Los controles positivo y negativo tienen que llamarse como se ha descrito.

11. Confirme que **Task (Tarea)** está ajustada a **S (Standard [Estándar])** para todas las dianas del pocillo de control positivo.
12. Confirme que **Task (Tarea)** está ajustada a **N (Negative Control [Control negativo])** para todas las dianas del pocillo de control negativo.
13. En la tabla **Samples (Muestras)**, haga clic en **Add (Añadir)** para establecer los nombres de las muestras. Cree un nombre de muestra único para cada pocillo de la placa física.

¡IMPORTANTE! Los datos personales se deberán encriptar, dissociar o anonimizar siempre que sea posible según los requisitos del laboratorio en virtud del RGPD (Reglamento General de Protección de Datos).

14. Para asignar una muestra a un pocillo, seleccione el pocillo en la disposición de la placa y después seleccione la muestra en la tabla **Samples (Muestras)**.

Confirme que **Task (Tarea)** está ajustada a **U (Unknown [Desconocida])** para todas las dianas de los pocillos de muestras de paciente.

Nota: El software no analizará los pocillos que no tengan un nombre de muestra.

15. Cargue la placa de reacción de RT-PCR preparada y sellada en el instrumento de PCR en tiempo real.
16. Coloque una MicroAmp™ Optical Film Compression Pad con el lado gris hacia abajo sobre la superficie de la placa de reacción de RT-PCR, para garantizar que haya un sello adecuado entre el termociclador y la película adhesiva.

¡IMPORTANTE!

- Tenga cuidado de colocar la almohadilla de compresión con el lado marrón hacia arriba y el lado gris hacia abajo, centrada sobre la placa.
 - Antes de usarla, asegúrese de que la almohadilla de compresión no tenga arrugas ni signos de deterioro.
-

17. En la pestaña **Run (Carrera)**, haga clic en **Start Run (Iniciar carrera)** y después seleccione el instrumento de la lista desplegable.
18. Introduzca un nombre de archivo en el cuadro de diálogo que le pide que guarde el archivo de la carrera y después guarde el archivo.
19. Al final de la carrera, quite la MicroAmp™ Optical Film Compression Pad de la placa y guarde la almohadilla de compresión dentro del paquete.

¡IMPORTANTE!

- Si la almohadilla de compresión se atasca dentro del termociclador, llame a mantenimiento para limpiar la tapa caliente.
 - Entre cada uso, ponga la almohadilla de nuevo en la bolsa para que no se seque.
 - Cada almohadilla de compresión puede usarse hasta 20 veces antes de tener que desecharla. No la utilice más de 20 veces.
 - NO utilice la almohadilla con otros instrumentos, a menos que en la documentación de usuario se le indique explícitamente que lo haga.
-



Realice la RT-PCR usando el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos)

- Calibración del fluorocromo para el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument 31
- Transferir el archivo de la plantilla (archivo EDT) al QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos) 31
- Configurar y ejecutar el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos) 32

Calibración del fluorocromo para el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument

Garantiza que las calibraciones de sistemas estén actualizadas. Además, el fluorocromo ABY™ y el fluorocromo JUN™ deben calibrarse para poder usarlos con este kit. Consulte el proceso de calibración estándar en la guía de usuario del instrumento.

Transferir el archivo de la plantilla (archivo EDT) al QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos)

El archivo de la plantilla (archivo EDT) contiene la configuración de la carrera del instrumento.

Está en la misma carpeta comprimida que el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0. La carpeta es RNaseP_2.0_CE-IVD_QS7_384_AssayPanel_Template.

El archivo de la plantilla debe transferirse con una unidad USB u otro método al ordenador en el que está instalado el QuantStudio™ Real-Time PCR Software v1.3.

¡IMPORTANTE! Tenga cuidado de seleccionar el archivo de plantilla apropiado para su instrumento y el tipo de bloque. De lo contrario, pueden producirse errores en el análisis.

1. Después de extraer los archivos de la carpeta comprimida, seleccione el siguiente archivo EDT:
TaqPath COVID-19 RNase P Template QS7 384 1_3 v1_0.edt
2. Transfiera el archivo EDT al ordenador que tiene el QuantStudio™ Real-Time PCR Software v1.3, usando una unidad USB u otro método.

Configurar y ejecutar el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos)

Para obtener más información sobre el instrumento, consulte los documentos que figuran en “Documentación relacionada” en la página 56.

1. En la pantalla de inicio del QuantStudio™ Real-Time PCR Software v1.3, haga clic en **Template (Plantilla)**.
2. Navegue hasta el archivo EDT que ha transferido en “Transferir el archivo de la plantilla (archivo EDT) al QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos)” en la página 31 y ábralo.

¡IMPORTANTE! Tenga cuidado de seleccionar el archivo de plantilla apropiado para su instrumento, tipo de bloque y tipo de ensayo. De lo contrario, pueden producirse errores en el análisis.

3. En la pestaña **Experiment Properties (Propiedades del experimento)**, introduzca o confirme lo siguiente.
 - **Experiment Name (Nombre del experimento):** Introduzca un nombre único
 - **Instrument type (Tipo de instrumento):** QuantStudio™ 7 Flex System
 - **Block (Bloque):** 384-well (384 pocillos)
 - **Type of experiment (Tipo de experimento):** Standard Curve (Curva estándar)
 - **Reagents (Reactivos):** TaqMan™ Reagents (Reactivos)
 - **Properties (Propiedades):** Standard (Estándar)
4. En la pestaña **Define (Definir)**, en el panel **Targets (Dianas)**, confirme que las dianas, los fluorocromos notficadores y los inhibidores están correctamente enumerados.

Nombre del gen diana	Fluorocromo notficador	Inhibidor
ORF1a	FAM	Ninguno
Gen N	VIC	
ORF1b	ABY	
RNasa P	JUN	

¡IMPORTANTE! Los nombres de las dianas distinguen entre mayúsculas y minúsculas, y deben designarse como aparece descrito.

5. En la pestaña **Define (Definir)** del panel **Samples (Muestras)**, defina un nombre de muestra para cada muestra. Cree un nombre de muestra único para cada pocillo de la placa física.

Nota: El software no analizará los pocillos que no tengan un nombre de muestra.

¡IMPORTANTE! Los datos personales se deberán encriptar, disociar o anonimizar siempre que sea posible según los requisitos del laboratorio en virtud del RGPD (Reglamento General de Protección de Datos).

6. En la pantalla **Define (Definir)**, confirme que **Passive Reference (Referencia pasiva)** está ajustada a **None (Ninguna)**.
7. En la pantalla **Assign (Asignar)**, confirme que las dianas están asignadas a cada pocillo en la pestaña **Plate Layout (Disposición de la placa)**.
Para asignar una diana a un pocillo, seleccione el pocillo en la disposición de la placa y después seleccione las dianas de la tabla **Targets (Dianas)**.
8. En la pantalla **Assign (Asignar)** de la pestaña **Plate Layout (Disposición de la placa)**, confirme el etiquetado de los pocillos de control.
 - La plantilla contiene un control positivo (PC) y un control negativo (NC) asignados a los pocillos como referencia.
 - El control positivo tiene que llamarse **PC**. Si se incluyen caracteres adicionales, tendrá que llamarse **PC<>**, donde <> lo define el usuario, por ejemplo **PC1**.
 - El control negativo tiene que llamarse **NC**. Si se incluyen caracteres adicionales, tendrá que llamarse **NC<>**, donde <> lo define el usuario, por ejemplo **NC1**.
 - Mueva las asignaciones de los pocillos de control copiando los pocillos de control existentes y pegándolos de acuerdo con su ubicación en la placa física.

¡IMPORTANTE! Los controles positivo y negativo tienen que llamarse como se ha descrito.

9. En la pantalla **Assign (Asignar)**, confirme las asignaciones de **Task (Tarea)**.
 - En los pocillos con control positivo (**CP**), confirme que **Task (Tarea)** esté ajustada a **S (Standard [Estándar])** en todas las dianas.
 - En los pocillos con control negativo (**NC**), confirme que **Task (Tarea)** está ajustada a **N (Negative Control [Control negativo])** en todas las dianas.
 - En los pocillos con una muestra de paciente, confirme que **Task (Tarea)** está ajustada a **U (Unknown [Desconocido])** en todas las dianas.
10. En la pantalla **Assign (Asignar)**, asigne un nombre de muestra a cada pocillo que coincida con la placa física.
Para asignar una muestra a un pocillo, seleccione el pocillo en la disposición de la placa y después seleccione la muestra en la tabla **Samples (Muestras)**.

Nota: El software no analizará los pocillos que no tengan un nombre de muestra.

11. En la pestaña **Run Method (Método de carrera)**, confirme que **Reaction Volume Per Well (Volumen de reacción por pocillo)** es 20 µl y después confirme el protocolo térmico.

Paso	Temperatura ^[1]	Tiempo	Número de ciclos
Incubación de UNG	25 °C	2 minutos	1
Transcripción inversa	53 °C	10 minutos	1
Preincubación	85 °C	10 minutos	1
Activación	95 °C	2 minutos	1

(cont.)

Paso	Temperatura ^[1]	Tiempo	Número de ciclos
Desnaturalización	95 °C	3 segundos	40
Hibridación/extensión	60 °C	30 segundos	

[1] Confirme que la velocidad de rampa para cada paso es 1,6 °C por segundo.

12. En la pantalla **Run Method (Método de carrera)**, seleccione **Optical Filters (Filtros ópticos)** y, a continuación, seleccione los 8 filtros de PCR que se observan en la Tabla 5.

Para habilitar **Optical Filters (Filtros ópticos)**, desplácese hasta **Tools (Herramientas) ▶ Preferences (Preferencias)** y, a continuación, en la pestaña **Defaults (Valores predeterminados)**, seleccione **Show optical filters for run method (Mostrar filtros ópticos para el método de carrera)**.

Nota: Se preseleccionan cinco filtros de forma predeterminada.

Tabla 5 Filtros de PCR

		Filtro de emisión					
		m1(520±15)	m2(558±11)	m3(586±10)	m4(623±14)	m5(682±14)	m6(711±12)
Filtro de ex- citación	x1(470±15)	✓	✓				
	x2(520±10)		✓	✓			
	x3(550±11)			✓	✓		
	x4(580±10)				✓		
	x5(640±10)					✓	
	x6(662±10)						

13. Cargue la placa de reacción de RT-PCR preparada y sellada en el instrumento de PCR en tiempo real.
14. En la pantalla **Run (Carrera)**, haga clic en **Start Run (Iniciar carrera)** y después seleccione el instrumento de la lista desplegable.
15. Introduzca un nombre de archivo en el cuadro de diálogo que le pide que guarde el archivo de la carrera y después guarde el archivo.

6

Análisis y resultados

- Compatibilidad de software e instrumentos 35
- Conseguir el paquete de software 36
- Instalar el panel de ensayo 37
- Analizar los datos 38
- Interpretación de los resultados 38

Compatibilidad de software e instrumentos

Software	Descripción
Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0	Análisis de los datos y software de interpretación de resultados
SAE Administrator Console Dx v1.0.0	Herramienta de seguridad y auditoría
C19-RNaseP-CE-IVD_QS5-9602_1.0.0	Panel de ensayo para el QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument (bloque de 96 pocillos, 0,2 ml)
C19-RNaseP-CE-IVD_QS7-384_1.0.0	Panel de ensayo para el QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument (bloque de 384 pocillos)

Si desea información sobre cómo obtener el software, consulte la “Conseguir el paquete de software” en la página 36.

En la siguiente tabla se muestra el panel de ensayo que es compatible con el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0, el instrumento y su software de análisis asociado.

Instrumento	Software de análisis asociado al instrumento	Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition	Código y versión del panel de ensayo ^[1]
QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument con firmware de instrumento v1.3.3 <ul style="list-style-type: none"> Bloque de 96 pocillos, 0,2 ml 	QuantStudio™ Design and Analysis Desktop Software v1.5.1	v1.1.0	C19-RNaseP-CE-IVD_QS5-9602_1.0.0
QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument con firmware de instrumento v1.0.4 <ul style="list-style-type: none"> Bloque de 384 pocillos 	QuantStudio™ Real-Time PCR Software v1.3	v1.1.0	C19-RNaseP-CE-IVD_QS7-384_1.0.0

^[1] Si desea información sobre cómo instalar el panel de ensayo, consulte "Instalar el panel de ensayo" en la página 37.

Para obtener el software o el firmware de análisis para el instrumento de PCR en tiempo real, vaya a [thermofisher.com/qpcrsoftware](https://www.thermofisher.com/qpcrsoftware) y seleccione su instrumento en la sección **Real-Time PCR (PCR en tiempo real)**.

Conseguir el paquete de software

Para realizar análisis de datos e interpretación de resultados, debe utilizar el siguiente software:

- Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0
- Consola de administración SAE Dx v1.0.0
- El panel de ensayo adecuado para el instrumento que utiliza:
 - C19-RNaseP-CE-IVD_QS5-9602_1.0.0
 - C19-RNaseP-CE-IVD_QS7-384_1.0.0

El software y el panel de ensayo se pueden instalar en un ordenador que aporte el cliente con las siguientes especificaciones mínimas del sistema informático:

- Sistema operativo: Windows™ 10 (64 bits), idioma configurado en español
- Procesador: Pentium® 4 o superior
- Memoria: 8 GB de RAM como mínimo
- Disco duro: como mínimo 10 GB de espacio libre
- Monitor: resolución de 1280 × 1024 o superior

Nota: No instale el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0 y la consola de administración SAE Dx v1.0.0 si ya están instalados en el ordenador. El software se puede utilizar con varios paneles de ensayo.

Para obtener el software, póngase en contacto con el equipo de soporte técnico. Vaya a [thermofisher.com/contactus](https://www.thermofisher.com/contactus).

Para obtener más información acerca del software, consulte el Apéndice C, “Documentación y soporte”.

Instalar el panel de ensayo

Un panel de ensayo contiene los ajustes de análisis que se utilizan para analizar los datos en el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0.

El panel del ensayo se ubica en la misma carpeta comprimida que el software y es específico del instrumento. Seleccione la carpeta para su instrumento.

Nota: El software debe instalarse antes de instalar el panel del ensayo.

Para analizar el archivo de datos solo se necesita un panel de ensayo correspondiente.

1. Extraiga los archivos desde la carpeta comprimida de su instrumento.

Instrumento	Nombre de carpeta
QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument	RNaseP_2.0_CE-IVD_QS5_96well_0.2mL_AssayPanel_Template
QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument	RNaseP_2.0_CE-IVD_QS7_384_AssayPanel_Template

2. En el software, haga clic en  **System (Sistema) ▶ Assay Panels (Paneles de ensayo) ▶ Actions (Acciones) ▶ Install (Instalar)**.
3. Navegue hasta el panel de ensayo para su instrumento.

Instrumento	Nombre y versión del panel de ensayo
QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument	C19-RNaseP-CE-IVD_QS5-9602_1.0.0
QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument	C19-RNaseP-CE-IVD_QS7-384_1.0.0

4. Haga clic en **Install (Instalar)**.

Nota: Si el panel de ensayo ya está instalado, se le pedirá que confirme que desea actualizarlo.

El panel de ensayo se añade a la biblioteca de **Assay Panels (Paneles de ensayo)**.

Para obtener más información sobre paneles de ensayo, incluida la desinstalación de paneles de ensayo, consulte la documentación del Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0 (Apéndice C, “Documentación y soporte”).

Analizar los datos

Para obtener instrucciones detalladas sobre el uso del software, haga clic en el menú **Help (Ayuda)** en el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0.

1. Usando una unidad USB u otro método, transfiera los archivos EDS del ordenador que tiene el software de recogida de datos al ordenador que tiene el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0.
2. En la pantalla del software, seleccione una de las siguientes opciones:

Opción	Descripción
En la Data Gallery (Galería de datos) , haga clic en Actions (Acciones) ▶ Open File (Abrir archivo) .	El archivo de datos se abrirá en la ventana actual.
En la Data Gallery (Galería de datos) , haga clic en Actions (Acciones) ▶ Open File in New Window (Abrir archivo en ventana nueva) .	El archivo de datos se abrirá en una ventana nueva.

3. Navegue hasta el archivo de datos y ábralo.
 - El archivo de datos se abre y los resultados se muestran en la pestaña **Presence Absence (Presencia/ausencia)**.
 - El archivo de datos se añade a la **Data Gallery (Galería de datos)**.

Nota: Si el archivo de datos ya se ha añadido a la **Data Gallery (Galería de datos)**, haga clic en él para abrirlo en la ventana actual, o coloque el cursor sobre el archivo y haga clic en **⋮ (Actions) (Acciones) ▶ Open in new window (Abrir en una nueva ventana)** para abrirlo en una nueva ventana.

Interpretación de los resultados

La interpretación de los resultados se hace según el Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0 con uno de los siguientes paneles:

Instrumento	Código del panel de ensayo	Versión del panel de ensayo
QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument	C19-RNaseP-CE-IVD_QS5-9602	1.0.0
QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument	C19-RNaseP-CE-IVD_QS7-384	1.0.0

Para obtener información sobre los valores de C_t que el software utiliza para interpretar los resultados, consulte el Apéndice A, “Valores de C_t de corte para las dianas de ensayo”.

Control de calidad y validez de los resultados

En cada carrera debe haber como mínimo un control negativo y un control positivo. Todos los pocillos de control deben pasar por la placa de RT-PCR en tiempo real para que se consideren válidos (Tabla 6).

Se deben procesar pocillos de control negativo adicionales en cada extracción que se representa en una placa de RT-PCR en tiempo real. Todos los pocillos de control deben pasar por la placa de RT-PCR en tiempo real para que se consideren válidos.

El software realiza automáticamente la validación de los resultados basándose en el comportamiento de los controles positivo y negativo.

Tabla 6 Pocillos de control

Control negativo (NC)				Control positivo (PC [CP])				Identificación general de control
ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P	ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P	
NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	POS	POS	Pasa
Todas las demás situaciones								Falla

Tabla 7 Interpretación de resultados para las dianas virales de las muestras de pacientes

Muestra ^[1]				Identificación	Evaluación
ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
POS	POS	POS	POS o NEG	Presencia	INFORME: SARS-CoV-2 detectado
POS	POS	NEG	POS o NEG	Presencia	INFORME: SARS-CoV-2 detectado
POS	NEG	POS	POS o NEG	Presencia	INFORME: SARS-CoV-2 detectado
NEG	POS	POS	POS o NEG	Presencia	INFORME: SARS-CoV-2 detectado
NEG	NEG	NEG	POS	Ausencia	INFORME: SARS-CoV-2 no detectado
NEG	NEG	NEG	NEG	No válido	REPETIR PRUEBA ^[2]
NEG	NEG	POS	POS o NEG	No concluyente	REPETIR PRUEBA ^[2] /INFORME: SARS-CoV-2 no concluyente
NEG	POS	NEG	POS o NEG	No concluyente	REPETIR PRUEBA ^[2] /INFORME: SARS-CoV-2 no concluyente
POS	NEG	NEG	POS o NEG	No concluyente	REPETIR PRUEBA ^[2] /INFORME: SARS-CoV-2 no concluyente

^[1] Para que se interpreten las dianas virales, los controles deben pasar la prueba (Tabla 6).

^[2] La prueba se tiene que repetir volviendo a extraer el ARN de la muestra original y repitiendo la RT-PCR. Si el resultado repetido sigue siendo no válido, contemple recoger una nueva muestra. Si el resultado repetido sigue siendo no concluyente, el profesional de la salud deberá realizar una prueba adicional de confirmación con una muestra nueva, si está clínicamente indicado.

■ Límite de detección (LdD)	41
■ Reactividad (inclusividad)	45
■ Sustancias interferentes	46
■ Reactividad cruzada	48
■ Evaluación clínica	50

Se evaluó el rendimiento analítico del TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 mediante la determinación del límite de detección (LdD) y la caracterización del impacto de las sustancias interferentes y la reactividad cruzada, como se describe en las siguientes secciones.

Límite de detección (LdD)

El estudio del LdD con 17,5 µl y 14,0 µl de ARN de muestra purificada determinó la concentración vírica mínima de SARS-CoV-2 (equivalentes de copia genómica [Genomic Copy Equivalents, GCE]) que puede detectar el TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 al menos un 95 % del tiempo. Las muestras de hisopo nasofaríngeo (HNF) e hisopo nasal (HN) del banco se obtuvieron de pacientes de los Estados Unidos entre los años 2015-2019. Las muestras se agruparon, respectivamente, y se inocularon con SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama; aislado USA-WA1/2020 (BEI Resources, PN NR-52287, LN 70033322) y se procesaron usando el flujo de trabajo del TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0. Para determinar el LdD para cada tipo de muestra, se usó un enfoque en dos fases. El LdD preliminar se estableció en la fase I, y el LdD se confirmó en la fase II mediante la prueba de 20 réplicas.

Tabla 8 Determinación de LdD en muestras de hisopo nasofaríngeo (HNF) inoculadas con el aislado de SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama USA-WA1/2020 (QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument [96 pocillos], 17,5 µl de ARN de muestra purificada)

Concentración	Réplica	C _t				Interpretación	% positivo
		ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
75 GCE/ml de muestra	1	30,44	31,32	31,35	22,88	Positivo	100 %
	2	30,81	32,07	31,57	23,23	Positivo	
	3	31,28	31,78	31,59	23,22	Positivo	
	4	30,33	31,11	31,03	23,05	Positivo	
	5	30,83	31,83	31,14	23,15	Positivo	
	6	30,16	30,89	30,81	22,93	Positivo	

Tabla 8 Determinación de LdD en muestras de hisopo nasofaríngeo (HNF) inoculadas con el aislado de SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama USA-WA1/2020 (QuantStudio 5 Real-Time PCR Instrument [96 pocillos], 17,5 µl de ARN de muestra purificada) (cont.)

Concentración	Réplica	C _t				Interpretación	% positivo
		ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
75 GCE/ml de muestra	7	31,06	30,95	31,18	23,16	Positivo	100 %
	8	29,73	30,63	30,29	23,05	Positivo	
	9	30,44	31,44	31,44	23,08	Positivo	
	10	30,70	31,11	31,30	23,05	Positivo	
	11	30,57	30,98	31,01	23,01	Positivo	
	12	31,16	32,14	32,26	23,33	Positivo	
	13	30,73	31,10	31,21	23,20	Positivo	
	14	30,62	31,43	31,37	23,19	Positivo	
	15	30,67	31,75	31,43	23,14	Positivo	
	16	30,48	31,09	30,96	23,20	Positivo	
	17	30,30	31,13	30,90	23,07	Positivo	
	18	30,46	31,04	30,90	23,14	Positivo	
	19	30,76	31,27	31,23	23,04	Positivo	
	20	30,70	31,40	31,34	23,18	Positivo	

Tabla 9 Determinación del LdD en muestras de hisopo nasofaríngeo (HNF) inoculadas con el aislado de SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama USA-WA1/2020 (QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument [384 pocillos], 14,0 µl de ARN de muestra purificada)

Concentración	Réplica	C _t				Interpretación	% positivo
		ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
75 GCE/ml de muestra	1	30,93	33,15	36,44	22,76	Positivo	100 %
	2	28,85	32,34	31,63	22,73	Positivo	
	3	32,94	33,51	35,75	22,73	Positivo	
	4	29,39	32,41	31,66	22,65	Positivo	
	5	30,87	32,96	32,25	22,63	Positivo	
	6	31,74	32,26	33,06	22,68	Positivo	
	7	31,14	32,31	32,26	22,57	Positivo	
	8	31,94	32,78	32,31	22,59	Positivo	

Tabla 9 Determinación del LdD en muestras de hisopo nasofaríngeo (HNF) inoculadas con el aislado de SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama USA-WA1/2020 (QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR Instrument [384 pocillos], 14,0 µl de ARN de muestra purificada) (cont.)

Concentración	Réplica	C _t				Interpretación	% positivo
		ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
75 GCE/ml de muestra	9	32,56	33,98	36,35	22,87	Positivo	100 %
	10	36,69	33,31	36,24	22,90	Positivo	
	11	29,91	32,70	32,54	22,62	Positivo	
	12	30,70	31,99	31,54	23,20	Positivo	
	13	31,64	32,48	32,00	22,98	Positivo	
	14	31,13	32,52	32,22	22,61	Positivo	
	15	31,99	32,74	32,32	22,70	Positivo	
	16	32,32	32,52	32,20	22,97	Positivo	
	17	31,08	31,96	32,32	22,65	Positivo	
	18	29,90	31,65	31,30	22,58	Positivo	
	19	31,29	32,70	32,93	22,63	Positivo	
	20	31,63	34,09	32,62	23,25	Positivo	

Tabla 10 Determinación de LdD en muestras de hisopo nasal (HN) inoculadas con el aislado de SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama USA-WA1/2020 (QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument [96 pocillos], 17,5 µl de ARN de muestra purificada)

Concentración	Réplica	C _t				Interpretación	% positivo
		ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
75 GCE/ml de muestra	1	31,52	32,34	32,19	24,60	Positivo	100 %
	2	30,93	31,49	31,28	24,89	Positivo	
	3	31,47	31,46	31,43	24,73	Positivo	
	4	30,99	31,18	31,30	24,66	Positivo	
	5	30,95	31,68	31,32	24,40	Positivo	
	6	30,47	31,31	30,81	24,31	Positivo	
	7	30,82	31,61	31,47	24,45	Positivo	
	8	31,13	31,90	31,63	24,45	Positivo	
	9	30,92	31,46	31,50	24,52	Positivo	
	10	30,66	31,41	31,14	24,54	Positivo	

Tabla 10 Determinación de LdD en muestras de hisopo nasal (HN) inoculadas con el aislado de SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama USA-WA1/2020 (QuantStudio 5 Real-Time PCR Instrument [96 pocillos], 17,5 µl de ARN de muestra purificada) (cont.)

Concentración	Réplica	C _t				Interpretación	% positivo
		ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
75 GCE/ml de muestra	11	31,41	31,94	31,62	24,23	Positivo	100 %
	12	31,39	31,94	31,47	24,42	Positivo	
	13	30,96	31,35	31,38	24,50	Positivo	
	14	30,50	31,09	30,57	24,53	Positivo	
	15	31,10	31,42	31,63	24,34	Positivo	
	16	30,24	30,77	30,58	24,37	Positivo	
	17	30,90	31,82	31,13	24,38	Positivo	
	18	30,76	31,57	31,20	24,39	Positivo	
	19	30,92	31,46	30,99	24,32	Positivo	
	20	31,45	31,55	31,67	24,39	Positivo	

Tabla 11 Determinación de LdD en muestras de hisopo nasal (HN) inoculadas con el aislado de SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama USA-WA1/2020 (QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR Instrument [384 pocillos], 14,0 µl de ARN de muestra purificada)

Concentración	Réplica	C _t				Interpretación	% positivo
		ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
75 GCE/ml de muestra	1	31,85	32,71	33,43	24,53	Positivo	100 %
	2	31,84	32,54	32,22	24,89	Positivo	
	3	30,98	33,12	32,39	24,80	Positivo	
	4	31,83	32,55	32,42	24,52	Positivo	
	5	32,25	32,72	32,37	24,39	Positivo	
	6	31,24	32,73	32,15	24,53	Positivo	
	7	31,71	32,92	32,92	24,52	Positivo	
	8	32,44	33,47	32,89	24,53	Positivo	
	9	31,96	32,50	32,31	24,52	Positivo	
	10	32,21	33,63	32,64	25,01	Positivo	
	11	28,71	32,73	33,20	24,21	Positivo	
	12	31,77	33,62	32,98	24,56	Positivo	

Tabla 11 Determinación de LdD en muestras de hisopo nasal (HN) inoculadas con el aislado de SARS-CoV-2 irradiado con rayos gama USA-WA1/2020 (QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR Instrument [384 pocillos], 14,0 µl de ARN de muestra purificada) (cont.)

Concentración	Réplica	C _t				Interpretación	% positivo
		ORF1a	Gen N	ORF1b	RNasa P		
75 GCE/ml de muestra	13	31,66	32,23	32,12	24,50	Positivo	100 %
	14	31,97	33,00	32,67	24,48	Positivo	
	15	31,35	32,56	31,79	24,32	Positivo	
	16	31,42	33,52	32,23	24,36	Positivo	
	17	31,54	32,28	32,11	24,44	Positivo	
	18	31,48	32,49	32,29	24,41	Positivo	
	19	32,09	32,73	32,37	24,60	Positivo	
	20	32,25	32,67	32,74	24,54	Positivo	

Tabla 12 Resultados del LdD

Tipo de muestra	Límite de detección (LdD) (GCE/ml de muestra)
Hisopo nasofaríngeo	75 GCE/ml de muestra
Hisopo nasal	75 GCE/ml de muestra

Reactividad (inclusividad)

Se llevó a cabo un análisis *informático* usando 1 802 689 genomas de SARS-CoV-2 completos disponibles en la base de datos GISAID a fecha de 9 de junio de 2021. Una muestra se considera positiva cuando presenta una temperatura de fusión superior a la temperatura de hibridación en al menos un ensayo por región de interés en al menos dos dianas (ORF1a, ORF1b y gen N). Conforme al análisis de BLAST, el ensayo TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 cubre con un 100 % de homología el 100 % de las secuencias genómicas del SARS-CoV-2 disponibles en la base de datos GISAID.

Sustancias interferentes

Las muestras agrupadas de hisopo nasofaríngeo para SARS-CoV-2 se inocularon con ARN vírico de SARS-CoV-2 purificado a 3X el límite de detección (LdD) (225 GCE/ml) y sustancias potencialmente interferentes a las concentraciones de la Tabla 13. Cada sustancia se analizó con extracciones por triplicado. Los resultados se presentan en la Tabla 13.

Las muestras agrupadas de hisopo nasofaríngeo negativas para SARS-CoV-2 se inocularon con sustancias potencialmente interferentes a las concentraciones que se han mencionado anteriormente. Cada sustancia se analizó con extracciones por triplicado. No se observaron resultados falsos positivos ni falsos negativos en ninguna de las sustancias a las concentraciones analizadas.

Tabla 13 Sustancias interferentes

Sustancia interferente	Concentración final en la muestra	Acuerdo con los resultados esperados			
		Muestras de HNF positivas		Muestras de HN negativas	
		QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument	QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR System	QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument	QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR System
Ninguno	N/A	100 %	100 %	100 %	100 %
Mucina: glándula submaxilar bovina, tipo I-S	0,1 mg/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Sangre (humana)	1 % v/v	100 %	100 %	100 %	100 %
Aerosol nasal (Afrin™)	10 % v/v	100 %	100 %	100 %	100 %
Corticosteroides nasales: propionato de fluticasona	5 µg/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Gel nasal: NeilMed™ Nasogel™	1 % p/v	100 %	100 %	100 %	100 %
Medicamento homeopático para el alivio de la alergia: bioAllers®	10 % v/v	100 %	100 %	100 %	100 %
Pastillas para la garganta, anestésico oral y analgésico: Dorithricin®	1 % p/v	100 %	100 %	100 %	100 %
Fosfato de oseltamivir	33 µg/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Antibiótico, pomada nasal: ácido pseudomónico	5 µg/ml	100 %	100 %	100 %	100 %
Antibacteriano sistémico: tobramicina	0,6 mg/ml	100 %	100 %	100 %	100 %

Reactividad cruzada

El análisis funcional se realizó mediante los siguientes 31 organismos. No se generaron resultados de **Presence (Presencia)** con el TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 y se generó un resultado de **Inconclusive (No concluyente)** con el coronavirus del SARS debido a la amplificación positiva de una de las tres dianas SARS-CoV-2.

Tabla 14 Organismos utilizados para el análisis *in vitro* de reactividad cruzada

Coronavirus humano 229E	Rinovirus
Coronavirus humano OC43	Virus de Epstein-Barr (herpesvirus humano 4)
Coronavirus humano HKU1	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>
Coronavirus humano NL63	<i>Haemophilus influenzae</i>
Coronavirus del SARS ^[1]	<i>Legionella pneumophila</i>
Coronavirus del MERS	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Adenovirus	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Metaneumovirus humano (MNVh)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Parainfluenza 1	<i>Bordetella pertussis</i>
Parainfluenza 2	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Parainfluenza 3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Parainfluenza 4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Influenza A	<i>Streptococcus salivarius</i>
Influenza B	<i>Candida albicans</i>
Enterovirus	Lavado nasal humano agrupado
Virus sincitial respiratorio	

[1] El coronavirus del SARS generó un resultado Inconclusive (No concluyente) (se observó amplificación para el gen N, pero no para las dianas ORF1a y ORF1b).

Además de las pruebas funcionales, se realizó un estudio *in silico* para evaluar la reactividad cruzada entre las secuencias de cebador/sonda del TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 y los organismos en Tabla 15 con análisis BLAST. Con excepción del SARS-CoV, ningún microorganismo bacteriano, vírico ni micótico se alineó con una identidad $\geq 80\%$ con más de un componente de ensayo del TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0. La mayoría de los 285 aislados de coronavirus del SARS aislados en este estudio compartieron una identidad $\geq 80\%$ con más de un componente del ensayo para los ensayos del gen N y ORF1b.

Tabla 15 Microorganismos utilizados para el análisis *in silico* de reactividad cruzada

<i>Bacillus anthracis</i>	Adenovirus
<i>Bacteroides oralis</i>	Citomegalovirus (herpesvirus humano 5)

<i>Bordetella pertussis</i>	Enterovirus
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	Virus de Epstein-Barr (herpesvirus humano 4)
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	Virus de la hepatitis B
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Virus de la hepatitis C
<i>Coxiella burnetii</i>	Virus del herpes simple tipo 1
Género <i>Eikenella</i>	Coronavirus humano 229E
<i>Haemophilus influenzae</i>	Coronavirus humano HKU1
<i>Legionella no pneumophila</i>	Coronavirus humano NL63
<i>Legionella pneumophila</i>	Coronavirus humano OC43
Género <i>Leptospira</i>	Virus de la inmunodeficiencia humana
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Metaneumovirus humano (MNVh)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Virus de influenza tipo A
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Virus de influenza tipo B
<i>Neisseria elongata</i>	Virus de influenza tipo C
<i>Neisseria meningitidis</i>	Coronavirus del MERS
Género <i>Nocardia</i>	Virus parainfluenza 1
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Virus parainfluenza 2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Virus parainfluenza 3
<i>Staphylococcus aureus</i>	Virus parainfluenza 4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Parechovirus
<i>Streptococcus mutans</i>	Virus sincitial respiratorio A
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Virus sincitial respiratorio B
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Rinovirus
<i>Streptococcus salivarius</i>	Coronavirus del SARS
<i>Candida albicans</i>	Virus de la varicela-zóster (herpesvirus humano 3)
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	

Evaluación clínica

Se realizó un estudio de evaluación clínica para evaluar el rendimiento del TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 utilizando muestras de hisopo nasofaríngeo (HNF) e hisopo nasal (HN).

Se probaron las siguientes muestras:

- 60 muestras positivas para SARS-CoV-2 (54 hisopos nasofaríngeos y 6 hisopos nasales)
- 60 muestras negativas para SARS-CoV-2 (45 hisopos nasofaríngeos y 15 hisopos nasales)

Las muestras se analizaron con el TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 y un ensayo de comparación que cuenta con autorización para uso de emergencia (EUA) de la FDA.

Las muestras se extrajeron con el MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit para su análisis con el TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 y se efectuó una RT-PCR en los instrumentos de PCR en tiempo real QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (bloque de 96 pocillos, 0,2 ml) y QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR System (384 pocillos). El método de comparación se aplicó según las instrucciones de uso de los ensayos de comparación.

Se calcularon los valores de porcentaje de concordancia positiva (PPA) y porcentaje de concordancia negativa (NPA) en relación con el ensayo de comparación. Los resultados son los siguientes.

Tabla 16 Estudio de evaluación clínica para SARS-CoV-2 (QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Instrument, bloque de 96 pocillos, 0,2 ml)

TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0	Elemento de comparación: Prueba para SARS-CoV-2 cobas®		
	Positivo para SARS-CoV-2	Negativo para SARS-CoV-2	Total
Positivo para SARS-CoV-2	58	3	61
Negativo para SARS-CoV-2	2	57	59
Total	60	60	120

PPA: 96,7 % (IC del 95 %: LCL del 88,5 %; UCL del 99,6 %)

NPA: 95 % (IC del 95 %: LCL del 86,1%; UCL del 99,0%)

Directora Técnica y Apoderada Legal
MN: 18284
Life Sciences Solutions - Thermo Fisher Scientific
Invitrogen Argentina S.A.

Tabla 17 Estudio de evaluación clínica para SARS-CoV-2 (QuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR System, 384 pocillos)

TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0	Elemento de comparación: Prueba para SARS-CoV-2 cobas®		
	Positivo para SARS-CoV-2	Negativo para SARS-CoV-2	Total
Positivo para SARS-CoV-2	57	2	59
Negativo para SARS-CoV-2	3	58	61
Total	60	60	120

PPA: 95,0 % (IC del 95 %: LCL del 86,1%; UCL del 99,0%)

NPA: 96,7 % (IC del 95 %: LCL del 88,5 %; UCL del 99,6 %)



Valores de C_t de corte para las dianas de ensayo

El Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition v1.1.0 utiliza los siguientes valores de C_t de corte para las dianas del ensayo durante la interpretación de los resultados.

Tabla 18 Valores de C_t de corte

Muestra o control	Diana	Valor de C_t de corte
Control positivo	RNasa P	Los valores de C_t válidos son ≤ 35
	Dianas virales	Los valores de C_t válidos son ≤ 37
Control negativo	RNasa P	Los valores de C_t válidos son > 35
	Dianas virales	Los valores de C_t válidos son > 37
Muestras clínicas	RNasa P	Los valores de C_t válidos son ≤ 32 ^[1]
	Dianas virales	Los valores de C_t positivos son ≤ 37

^[1] Si alguna de las dianas virales es positiva, el valor de C_t para RNasa P puede ser > 32 .



Seguridad

¡ADVERTENCIA! SEGURIDAD GENERAL. Si este producto se utiliza de alguna forma que no se especifica en la documentación del usuario, se pueden producir lesiones personales o daños en el instrumento o el dispositivo. Asegúrese de que todo el que utilice este producto haya recibido instrucciones sobre las prácticas de seguridad generales para laboratorios y la información de seguridad facilitada en este documento.

- Antes de utilizar un instrumento o dispositivo, lea y comprenda la información de seguridad facilitada en la documentación del usuario suministrada por el fabricante del instrumento o del dispositivo.
- Antes de manipular productos químicos, lea y comprenda todas las hojas de datos de seguridad (SDS) y use el equipo de protección individual apropiado (guantes, batas, protección ocular, etc.). Para obtener las SDS, consulte el apartado «Documentación y soporte» de este documento.

Seguridad química

¡ADVERTENCIA! MANIPULACIÓN GENERAL DE PRODUCTOS QUÍMICOS. Para reducir al mínimo los riesgos, asegúrese de que el personal del laboratorio lea y ponga en práctica las directrices sobre seguridad generales para el uso, la conservación y la eliminación de productos químicos que se dan a continuación. Consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) pertinentes para conocer las precauciones e instrucciones específicas:

- Lea y comprenda las hojas de datos de seguridad (SDS) que proporciona el fabricante de los productos químicos antes de almacenar, manipular o trabajar con cualquier producto químico o material peligroso. Para obtener las SDS, consulte el apartado «Documentación y soporte» de este documento.
- Reduzca al mínimo el contacto con productos químicos. Utilice un equipo de protección individual adecuado durante la manipulación de productos químicos (por ejemplo, gafas de seguridad, guantes o ropa protectora).
- Reduzca al mínimo la inhalación de productos químicos. No deje abiertos los recipientes de productos químicos. Utilícelos únicamente con una ventilación suficiente (por ejemplo, una campana extractora de humo).
- Compruebe periódicamente la ausencia de fugas o derrames de los productos químicos. Si se produce una fuga o un derrame, siga los procedimientos de limpieza del fabricante, tal y como se recomienda en la hoja de datos de seguridad.
- Manipule los residuos químicos bajo una campana extractora de humo.
- Asegúrese de que se utilizan los contenedores de residuos principales y secundarios. (Los contenedores de residuos principales contienen los residuos inmediatos. Los contenedores secundarios contienen cualquier derrame o fuga del contenedor principal. Ambos contenedores deben ser compatibles con el material de residuo y deben cumplir los requisitos nacionales, autonómicos y locales sobre el almacenamiento en contenedores).
- Después de vaciar el contenedor de residuos, séllelo bien con el tapón suministrado.
- Identificar (mediante análisis, si fuera necesario) los residuos generados por las aplicaciones, los reactivos y los sustratos concretos utilizados en su laboratorio.
- Asegúrese de que los residuos se almacenan, transfieren, transportan y eliminan de acuerdo con todas las normativas locales, estatales/provinciales o nacionales.
- **¡IMPORTANTE!** Los materiales radiactivos o que impliquen un peligro biológico pueden requerir una manipulación especial, pudiéndose aplicar limitaciones en materia de eliminación.

Seguridad biológica

¡ADVERTENCIA! Posible riesgo biológico. Dependiendo de las muestras utilizadas en este instrumento, su superficie se puede considerar un peligro biológico. Use los métodos de descontaminación apropiados cuando trabaje con sustancias con peligro biológico.

¡ADVERTENCIA! RIESGO BIOLÓGICO. Las muestras biológicas como, por ejemplo, tejidos, fluidos corporales, agentes infecciosos y sangre humana o de otros animales, pueden transmitir enfermedades infecciosas. Realice todo el trabajo en instalaciones que dispongan del equipamiento adecuado y con el equipo de seguridad apropiado (por ejemplo, dispositivos de contención física). El equipo de seguridad puede incluir también artículos para protección personal, como guantes, batas, trajes, protectores de zapatos, botas, respiradores, protectores faciales, protección para los ojos o gafas de seguridad. Los trabajadores deben recibir formación de acuerdo con los requisitos de la institución o empresa y los requisitos legales aplicables antes de trabajar con materiales potencialmente peligrosos. Siga todas las normativas locales, estatales/provinciales y/o nacionales aplicables. Las referencias siguientes proporcionan directrices generales sobre la manipulación de muestras biológicas en un entorno de laboratorio.

- U.S. Department of Health and Human Services, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)*, 6.ª edición, n.º de publicación del HHS (CDC) 300859, revisado en junio de 2020; se puede encontrar en:
<https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2020-P.pdf>
- Laboratory biosafety manual, fourth edition. Geneva: World Health Organization; 2020 (Laboratory biosafety manual, cuarta edición y documentos monográficos relacionados); se puede encontrar en:
www.who.int/publications/i/item/9789240011311



Documentación y soporte

Documentación relacionada

Documento	Número de publicación
<i>QuantStudio™ 3 and 5 Real-Time PCR Systems Installation, Use, and Maintenance Guide</i>	MAN0010407
<i>QuantStudio™ 6 and 7 Flex Real-Time PCR Systems Maintenance and Administration Guide</i>	4489821
<i>QuantStudio™ 6 and 7 Flex Real-Time PCR Systems Quick Reference</i>	4489826
<i>QuantStudio™ Real-Time PCR Software Getting Started Guide</i>	4489822
<i>MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit Instrucciones de uso</i>	MAN0019808
<i>Thermo Scientific™ KingFisher™ Flex User Manual</i>	MAN0019870
<i>Referencia rápida de instalación para Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition</i>	MAN0019678
<i>Guía de usuario de Pathogen Interpretive Software CE-IVD Edition</i>	MAN0019664
<i>Guía de usuario de SAE Administrator Console Dx</i>	MAN0019692

Asistencia al cliente y soporte técnico

Para obtener documentación e información adicional sobre este kit, visite:

[thermofisher.com/TaqPathC19RNaseP](https://www.thermofisher.com/TaqPathC19RNaseP)

Para descargar las instrucciones del paquete de software, consulte “Conseguir el paquete de software” en la página 36.

Para descargar las fichas de seguridad (SDS, también denominadas fichas técnicas de seguridad de los materiales [MSDS]):

1. Vaya a [thermofisher.com](https://www.thermofisher.com), luego seleccione SDS en la lista desplegable **Search All (Buscar todas)**.
2. Busque el número de catálogo o la referencia del producto.
3. Busque el número de catálogo o la referencia correspondiente, seleccione la región y el idioma y luego, descargue la SDS.

Nota: Para conocer las SDS de los reactivos y productos químicos de otros fabricantes, póngase en contacto con el fabricante.



Visite: [thermofisher.com/contactus](https://www.thermofisher.com/contactus) para obtener información del servicio técnico y asistencia para este kit, incluyendo:

- Números de teléfono de contacto de todo el mundo
- Información de asistencia del producto
- Pedidos y soporte web
- Certificados de análisis

Garantía limitada del producto

Life Technologies Corporation y/o sus filiales garantizan sus productos tal y como se establece en los términos y condiciones de venta de Life Technologies en www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html. Si tiene cualquier duda, póngase en contacto con Life Technologies en www.thermofisher.com/support.

thermofisher.com/support | thermofisher.com/askaquestion
thermofisher.com

23 Septiembre 2021


Directora Técnica y Apoderada Legal
MN: 12144
Life Sciences Solutions - Thermo Fisher Scientific
Invitrogen Argentina S.A.

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Modelo de rótulos

Sobre-rotulo

Importador: INVITROGEN ARGENTINA S.A.
Iturri 1474 | CABA | Rep. Argentina
T 011 4556 0844 | F 011 4556 0744
Director Tecnico: Brenda Aguiar Mat. Nac. 18284
Autorizado por la A.N.M.A.T PM 1569-24
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO – VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE
ANALISIS CLINICOS
Producto autorizado en el contexto de la emergencia sanitaria por COVID-19

Rótulos de origen

applied biosystems
by Thermo Fisher Scientific

REF A51074

TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0



Part 1 of 4 of TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 (**REF** A51334)

1000 **LOT** 0000000 0000-00-00

(01) 1 0190302 01672 8

(17) 000000

www.thermofisher.com/TaqPathC19RNaseP

-10°C
-30°C

(10) 0000000

(240) A51074

CE **IVD**

EC **REP**

Life Technologies Corp.
6055 Sunol Blvd.
Pleasanton, CA 94566, USA

Read SDS

LBL0027583 RevA

Directora Técnica y Apoderada Legal
MN: 18284
Life Sciences Solutions - Thermo Fisher Scientific
Invitrogen Argentina S.A.

applied biosystems

by Thermo Fisher Scientific

REF 966132

TaqPath™ COVID-19 Plus Control

Positive Control for TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0



Part 2 of 4 of TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 (REF A51334)

LOT 0000000 10 Tubes

0000-00-00



-20 °C

(01) 1 0190302 01662 9

(17) 000000

(10) 0000000

(240) 966132



www.thermofisher.com/TaqPathC19RNaseP



Life Technologies Corporation
6055 Sunol Boulevard
Pleasanton, CA 94566 USA

Read SDS

1810022811 Rev A

applied biosystems

by Thermo Fisher Scientific

REF A51628

TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer



Part 3 of 4 of TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 (REF A51334)

10 Tubes LOT 0000000 0000-00-00

(01) 1 0190302 01669 8

(17) 000000

(10) 0000000

(240) A51628



www.thermofisher.com/TaqPathC19RNaseP



-30°C -10°C



Life Technologies Corp.
6055 Sunol Blvd.
Pleasanton, CA 94566 USA

Read SDS

100102495 Rev A

Directora Técnica y Apoderada Legal
M.N: 18284
Life Sciences Solutions - Thermo Fisher Scientific
Invitrogen Argentina S.A.

applied biosystems

by Thermo Fisher Scientific

TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix

No ROX

Part 4 of 4 of TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0 (REF A61334)

10 mL **LOT** 00000000

0000-00-00



REF A51867



(01)10190302016773

(17)000000

(10)00000000

(240)A51867

CE **IVD** www.thermofisher.com/TaqPathC19RNaseP

Life Technologies Corp. **RC** **AMP**
6055 Sunol Boulevard
Pleasanton, CA 94566 USA

Read SDS

LBL0027353 Rev.01.00

Directora Técnica y Apoderada Legal
MN: 18284
Life Sciences Solutions - Thermo Fisher Scientific
Invitrogen Argentina S.A.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: INVITROGEN ARGENTINA S.A rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 61 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.11.29 08:02:05 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.11.29 08:02:06 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004849-22-8

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-004849-22-8

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por INVITROGEN ARGENTINA S.A ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Comercial: 1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions Conteniendo: 2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0 3) 966132 - TaqPath™ COVID-19 Plus Control 4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer 5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™)

Marca(s) de (los) producto(s) médico(s): TaqPath™

Indicación/es de uso:

1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions: contiene los reactivos y controles para una prueba de reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real para la detección cualitativa de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 en muestras de las vías respiratorias superiores (hisopo

nasofaríngeo e hisopo nasal) de individuos con presunta COVID-19.

2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0: ensayos multiplexados que contienen conjuntos de cebadores/sondas específicas para diferentes regiones genómicas del SARS-CoV-2 y cebadores/sondas para la RNasa P.

3) 966132 - TaqPath™ COVID-19 Plus Control: control in vitro de ARN transcrito que contiene plantillas específicas para las regiones del SARS-CoV-2 y la RNasa P a las que se dirigen los ensayos.

4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer: tampón de dilución para el control.

5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™): mezcla de PCR lista para usar, que incluye polimerasa, dNTP, sal y tampón.

PRODUCTO INSCRIPTO EN EL CONTEXTO A LA EMERGENCIA SANITARIA POR COVID-19

Forma de presentación: 1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions: Kit para 1000 (un mil) determinaciones conteniendo:

2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0: 1 tubo x 1.500 µl

3) 966132 - TaqPath™ COVID-19 Plus Control: 10 tubos x 10 µl

4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer: 10 tubos x 250 µl

5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™): 1 botella x 10 ml

Período de vida útil: 1) A51334 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Combo Kit 2.0, 1000 reactions: 12 meses de -30 °C a -10 °C

Conteniendo:

2) A51074 - TaqPath™ COVID-19 RNase P Kit 2.0: 12 meses de -30 °C a -10 °C

3) 966132 - TaqPath™ COVID-19 Plus Control: 12 meses de -30 °C a -10 °C

4) A51628 - TaqPath™ COVID-19 Control Dilution Buffer: 12 meses de -30 °C a -10 °C

5) A51867 - TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX™): 12 meses de -30 °C a -10 °C

Nombre del fabricante:

Life Technologies Corporation

Lugar de elaboración:

6055 Sunol Boulevard

Pleasanton CA 94566

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

Grupo de Riesgo: Grupo D

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 1569-24 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-004849-22-8

Nº Identificadorio Trámite: 40771

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.12.06 16:42:54 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.12.06 16:42:54 -03:00