

RIDA® GENE SARS-CoV-2

REF PG6815



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Alemania

+49 (0) 61 51 81 02-0 / +49 (0) 61 51 81 02-20 / www.r-biopharm.com



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. El ensayo RIDA®GENE SARS-CoV-2, que se realizará en el Roche LightCycler® 480 II, es una RT-PCR multiplex en tiempo real para la detección cualitativa directa del ARN del coronavirus (SARS-CoV-2) a partir de hisopos nasales/faríngeos de personas con síntomas de una infección respiratoria. El ensayo RIDA®GENE SARS-CoV-2 está diseñado para asistir en el diagnóstico diferencial de infecciones por SARS-CoV-2 en pacientes con síntomas de infección respiratoria junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

Los resultados negativos no descartan la infección por SARS-CoV-2 y no deben usarse como la única base para el diagnóstico.

El producto está previsto para ser utilizado por profesionales que trabajan en laboratorios hospitalarios, laboratorios de referencia, laboratorios privados o laboratorios del Estado.

2. Resumen y descripción del ensayo

A finales de diciembre en la metrópoli china de Wuhan, ocurrieron numerosos casos de neumonía de causa desconocida.¹ A principios de enero, las autoridades chinas identificaron un nuevo tipo de coronavirus (SARS-CoV-2) como la causa.¹

La enfermedad causada por el SARS-CoV-2 se denomina oficialmente COVID-19 ("Enfermedad del Coronavirus 2019") y es transmisible de persona a persona.²

En todo el mundo, se han notificado 3 925 815 casos (al 10 de mayo de 2020).³ Los casos iniciales en Alemania se confirmaron a finales de enero de 2020.⁴ En Alemania se han notificado 169 575 casos (hasta el 11 de mayo de 2020).^{4,5} La OMS declaró una emergencia sanitaria internacional el 31 de enero de 2020.^{1,5}

Las directrices originales de la OMS recomendaban una estrategia de tres objetivos.⁶ Cuando se preparó esta guía, no había suficiente información sobre la secuencia del SARS-CoV-2, de modo que los rangos de secuencia publicados por la OMS en las regiones individuales de genes diana eran demasiado inespecíficos para la detección fiable del ARN del SARS-CoV-2. Para aumentar la especificidad de los ensayos para SARS-CoV-2, se siguió una estrategia de tres objetivos en consecuencia. El 17 de enero de 2020, esta estrategia de tres objetivos se redujo a una estrategia de dos objetivos porque el tercer objetivo tenía una sensibilidad insuficiente.

El 17 de marzo de 2020, la OMS emitió una guía provisional para el diagnóstico de casos sospechosos de la enfermedad por coronavirus (COVID-19), causada por el SARS-CoV-2, con respecto a los requisitos para los ensayos de laboratorio de biología molecular, que establece: "En áreas donde el virus COVID-19 está ampliamente diseminado, se podría adoptar un algoritmo más simple en el que, por ejemplo, el cribado por RT-PCR en tiempo real de un solo objetivo discriminatorio de SARS-CoV-2 (estrategia de un solo objetivo) se considera suficiente".

Al desarrollar el ensayo de RT-PCR en tiempo real RIDA® GENE SARS-CoV-2, R-Biopharm AG siguió la estrategia de un solo objetivo desde el principio. Nuestro objetivo era establecer una detección sensible y específica de SARS-CoV-2 con un flujo de trabajo optimizado, es decir, sin ninguna confirmación adicional necesaria. Esto fue posible incluso en este momento porque una gran cantidad de secuencias del genoma del nuevo coronavirus SARS CoV-2 estaban disponibles. En el curso de los análisis del genoma, pudimos identificar una región dentro del gen E que es altamente específica para el SARS-CoV-2 y que tiene una alta sensibilidad para fines de cribado. Esta región se encuentra a unos 200 pares de bases en dirección 3' de la región inespecífica del gen E del SARS-CoV-2 publicada por la OMS. Al detectar esta región específica del gen E, pudimos reducir la detección de ARN del SARS-CoV-2 a un solo objetivo.

3. Principio del ensayo

El ensayo RIDA®GENE SARS-CoV-2 es una RT-PCR multiplex en tiempo real para la detección cualitativa directa del ARN del coronavirus (SARS-CoV-2) a partir de hisopos nasales/faríngeos de personas con síntomas de una infección respiratoria. La detección se lleva a cabo en un formato de RT-PCR en tiempo real en un paso, donde la transcripción inversa (RT) va seguida de la PCR en un vial de reacción. En el proceso, el ARN aislado se transcribe en ADNc con la ayuda de una transcriptasa inversa. Luego, los fragmentos de genes específicos para SARS-CoV-2 (gen E) se amplifican mediante PCR en tiempo real. Las secuencias diana amplificadas se detectan mediante sondas de hidrólisis que están marcadas en un extremo con un inhibidor y con un colorante fluorescente indicador (fluoróforo) en el otro. Las sondas se hibridan con el amplicón en presencia de una secuencia diana. Durante la extensión, la Taq polimerasa separa al indicador del extintor. El indicador emite una señal fluorescente que se detecta en la unidad óptica de un equipo de PCR en tiempo real. La señal fluorescente aumenta con la cantidad de amplicones formados. El ensayo RIDA®GENE SARS-CoV-2 contiene un Internal Control RNA (ICR) para poder controlar la preparación de las muestras o cualquier posible inhibición de la PCR.

4. Reactivos suministrados

Tabla 1: Reactivos suministrados (los reactivos del kit son suficientes para 100 determinaciones).

Código del kit	Reactivo	Cantidad		Color de la tapa
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	amarillo
2	Enzyme Mix	1x	80 µl	rojo
R	Internal Control RNA	2x	1700 µl	café
N	No Template Control	1x	450 µl	blanco
P	Positive Control	1x	200 µl	azul

5. Instrucciones de almacenamiento

- Todos los reactivos deben almacenarse protegidos de la luz, a -20 °C, y, en caso de no abrirlos, pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Después de la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida.
- Todos los reactivos deben descongelarse cuidadosamente antes de usarlos (p. ej., en un refrigerador a 2 °C - 8 °C).
- Los reactivos admiten hasta 20 ciclos de congelación/descongelación sin que esto afecte a las propiedades del ensayo (si es necesario, prepare alícuotas tras la primera descongelación y vuelva a congelar los reactivos de inmediato).
- Refrigere todos los reactivos adecuadamente durante la preparación de la PCR (2 °C - 8 °C).

6. Reactivos necesarios no suministrados

El ensayo de RT-PCR multiplex en tiempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 se verificó con la siguiente combinación de plataforma de extracción y dispositivo de PCR en tiempo real:

Tabla 2a: Equipo necesario (verificado)

Plataformas de extracción	
Promega	Maxwell®RSC
Dispositivos de PCR en tiempo real	
Roche	LightCycler®480II

Además, el ensayo de RT-PCR multiplex en tiempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 es compatible para utilizarse con las siguientes plataformas de extracción y dispositivos de PCR en tiempo real:

Tabla 2b: Equipo necesario (compatible)

Plataformas de extracción	
R-Biopharm AG	RIDA®Xtract
Roche	MagNA Pure 96 ⁷
Dispositivos de PCR en tiempo real	
R-Biopharm AG	RIDA®CYCLER
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500 Fast Dx
Bio-Rad	CFX96™ Dx
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Nota: Al utilizar el Rotor-Gene Q (QIAGEN), use únicamente tubos de 0,1 ml.

Si necesita usar otros procedimientos de extracción o equipos de PCR en tiempo real, póngase en contacto con R-Biopharm AG para comprobar la compatibilidad en mdx@r-biopharm.de.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) al usar el LightCycler[®] 480II
- Consumibles para PCR en tiempo real (placas, tubos, papel aluminio)
- Centrífuga con rotor para placas o viales de reacción
- Agitador de vórtex
- Pipetas (0,5 - 20 µl, 20 - 200 µl, 100 - 1,000 µl)
- Puntas de pipeta con filtros
- Guantes desechables sin talco
- Agua para PCR (agua sin nucleasas)

7. Precauciones para los usuarios

- Esta prueba solo debe llevarla a cabo personal de laboratorio capacitado. Deben respetarse las directrices para el trabajo en laboratorios médicos.
- Seguir siempre las instrucciones de uso al llevar a cabo esta prueba.
- No pipetee muestras ni reactivos con la boca. Evite el contacto con heridas de la piel y membranas mucosas.
- Lleve equipo de protección personal (guantes apropiados, bata de laboratorio, gafas de protección) al manipular los reactivos y las muestras y lávese las manos después de finalizar el ensayo.
- No fume, coma ni beba en las zonas en que se manipulen las muestras.
- Asegúrese de que la extracción, la preparación de PCR y la PCR se lleven a cabo en cuartos separados, con el fin de evitar la contaminación cruzada.
- Las muestras clínicas deben considerarse potencialmente infecciosas y se deben desechar adecuadamente, así como todos los reactivos y materiales que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas.
- Deseche el kit de ensayo cuando alcance la fecha de caducidad.

- Los usuarios son responsables de desechar de manera correcta y responsable todos los reactivos y materiales usados. Respete la normativa nacional en materia de eliminación de residuos.

Para obtener información más detallada, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

8.1 Preparación del ARN a partir de muestras respiratorias humanas

Para la preparación de ARN a partir de muestras respiratorias humanas, se recomienda un kit de extracción de ácidos nucleicos (p. ej., RIDA®Xtract [R-Biopharm AG]) o un sistema de extracción de ácidos nucleicos (por ejemplo, Maxwell®RSC [Promega]) que estén disponibles en el mercado. Deben seguirse las instrucciones del fabricante.

El ensayo RIDA®GENE SARS-CoV-2 contiene un **Internal Control RNA** que indica la posible inhibición de la PCR, comprueba la integridad de los reactivos y confirma la extracción correcta de los ácidos nucleicos. El **Internal Control RNA** puede usarse ya sea únicamente como control de inhibición o como control de extracción para la preparación de las muestras, y como control de inhibición.

Si el **Internal Control RNA** se usa únicamente como control de inhibición, se debe añadir 1 µl de **Internal Control RNA** a la mezcla maestra por cada reacción (consulte la tabla 4).

Si el **Internal Control RNA** se usa como control de extracción para la preparación de las muestras **y** como control de inhibición, se debe añadir 20 µl de **Internal Control RNA** durante la extracción por cada muestra. El **Internal Control RNA** debe añadirse a la mezcla de muestra y tampón de lisado, y **no** directamente al material de muestra.

Se recomienda añadir 1 µl por cada reacción del **Internal Control RNA** a la mezcla para PCR de control negativo y a la de control positivo.

Para obtener más información sobre la recolección, el almacenamiento y el transporte de muestras, consulte la Guía provisional de la OMS, 2 de marzo de 2020 <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>.⁶

9. Ejecución de la prueba

9.1 Preparación de la mezcla maestra

Debe calcularse el número total de reacciones (reacciones de muestras y de control) necesario para la PCR. En cada ensayo debe incluirse un control positivo y un control negativo.

Se recomienda añadir un volumen adicional del 10 % a la mezcla maestra para compensar las pérdidas por pipeteo (consulte las tablas 3 y 4). Antes de usar la **Reaction Mix**, descongele la **Enzyme Mix**, el **Positive Control**, el **No Template Control** y el **Internal Control RNA**, mezcle bien y centrifugue por un corto tiempo. Refrigere siempre los reactivos de forma adecuada durante las etapas del trabajo (2 °C- 8 °C).

Tabla 3: Ejemplo del cálculo y la preparación de la mezcla maestra para 10 reacciones (ICR como control de extracción e inhibición)

Código del kit	Componentes de la mezcla maestra	Cantidad por reacción	10 reacciones (más 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Enzyme Mix	0,7 µl	7,7 µl
	Total	20 µl	220 µl

Mezcle la mezcla maestra y centrifugue durante un breve lapso.

Tabla 4: Ejemplo del cálculo y la producción de la mezcla maestra para diez (10) reacciones (ICR solo como control de inhibición)

Código del kit	Componentes de la mezcla maestra	Cantidad por reacción	10 reacciones (más 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Enzyme Mix	0,7 µl	7,7 µl
R	Internal Control RNA	1,0 µl	11 µl
	Total	21,0 µl	231,0 µl

Mezcle la mezcla maestra y centrifugue durante un breve lapso.

9.2 Preparación de la mezcla de PCR

Pipetee 20 µl de mezcla maestra en cada vial de reacción (vial/placa).

Control negativo: Pipetee 5 µl del **No Template Control** a la mezcla maestra prepipeteada.

Nota: Si el **Internal Control RNA** se utiliza como control de extracción para la preparación de las muestras y como control de inhibición, se recomienda añadir 1 µl de **Internal Control RNA** a la mezcla para RT-PCR del control negativo.

Muestras: Añada 5 µl de eluato a la mezcla maestra prepipeteada.

Control positivo: Añada 5 µl del **Positive Control** a la mezcla maestra prepipeteada.

Nota: Si el **Internal Control RNA** se utiliza como control de extracción para la preparación de las muestras y como control de inhibición, se recomienda añadir 1 µl de **Internal Control RNA** a la mezcla para RT-PCR del control positivo.

Selle los viales o placas de reacción, centrifugue brevemente y transfiera al dispositivo de PCR en tiempo real. Comience la PCR de acuerdo con la configuración del equipo de PCR (consulte las tablas 5, 6 y 7).

9.3 Configuración del equipo de PCR

9.3.1 Perfil universal por PCR en tiempo real

Tabla 5: Perfil universal por RT-PCR en tiempo real en los equipos LightCycler® 480II y RIDA®CYCLER

<u>Transcripción inversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturalización inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturalización	10 s, 95 °C
Hibridación/Extensión	15 s, 60 °C
Velocidad de transición de la temperatura/velocidad de rampa	Máxima

Nota: La hibridación y la extensión pueden ocurrir en el mismo paso.

Tabla 6: Perfil universal por RT-PCR en tiempo real en el Mx3005P, ABI7500 Fast Dx, Rotor-Gene Q y CFX96™ Dx

<u>Transcripción inversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturalización inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturalización	15 s, 95 °C
Hibridación/Extensión	30 s, 60 °C
Velocidad de transición de la temperatura/velocidad de rampa	Máxima

Nota: La hibridación y la extensión pueden ocurrir en el mismo paso.

Nota: El perfil universal de la PCR en tiempo real también puede usarse en los ensayos de ADN si se combinan en una corrida los ensayos de PCR en tiempo real de ADN RIDA®GENE y de ARN RIDA®GENE.

9.4 Configuración del canal de detección

Tabla 7: Selección de los canales de detección adecuados

Dispositivo de PCR en tiempo real	Detección	Canal de detección	Comentario
R-Biopharm AG RIDA®CYCLER	SARS-CoV-2	Verde	-
	ICR	Amarillo	
Roche LightCycler® 480II	SARS-CoV-2	465/510	Se necesita el RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004).
	ICR	533/580	
Agilent Technologies Mx3005P	SARS-CoV-2	FAM	Establezca el colorante de referencia en "none" (ninguno).
	ICR	HEX	
ABI 7500 Fast Dx	SARS-CoV-2	FAM	Establezca el colorante de referencia pasivo ROX en "none" (ninguno).
	ICR	VIC	
Bio-Rad CFX96™ Dx	SARS-CoV-2	FAM	-
	ICR	VIC	
Qiagen Rotor-Gene Q	SARS-CoV-2	Verde	La ganancia debe establecerse en 5 (predeterminado de fábrica) para todos los canales.
	ICR	Amarillo	

10. Control de calidad

Las muestras se evalúan con el software de análisis del dispositivo de PCR en tiempo real respectivo, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los controles negativo y positivo deben mostrar los resultados correctos (consulte la tabla 8).

El **Positive Control** tiene una concentración de 10^3 copias/ μ l. Se usa en una cantidad total de 5×10^3 copias en cada corrida de PCR.

Tabla 8: Una corrida de PCR válida debe cumplir las siguientes condiciones:

Muestra	Resultado	Ct del ICR	Ct de genes diana
Control positivo	Positivo	N/D *1	Consulte el certificado de garantía de calidad
Control negativo	Negativo	Ct > 20	No es detectable

**1 No es necesario tener un valor de Ct para el ICR para obtener un resultado positivo del control positivo.*

Los controles positivo y negativo son válidos cuando cumplen las condiciones especificadas en la tabla. El rango de Ct para el control positivo se especifica en el Certificado de Garantía de Calidad incluido con el producto. Si uno de los dos controles no cumple las condiciones para una corrida válida, todas las reacciones deben volver a analizarse, incluidos los controles.

Si los valores especificados no se cumplen, verifique lo siguiente antes de repetir el ensayo:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados
- Funcionalidad de los dispositivos usados
- Ejecución de la prueba correcta

11. Interpretación de las muestras

La interpretación de los resultados se lleva a cabo según la tabla 9.

Tabla 9: Interpretación de las muestras

Detección de		
SARS-CoV-2	ICR	Resultado
positivo	positivo/ negativo	SARS-CoV-2 detectable
negativo	positivo	Gen diana no detectable
negativo	negativo	No válido

El SARS-CoV-2 es detectable si el ARN de la muestra y el Internal Control RNA muestran una señal de amplificación en el sistema de detección.

El SARS-CoV-2 también es detectable si el ARN presenta señal de amplificación, pero no se puede ver ninguna señal de amplificación para el Internal Control RNA en el sistema de detección. La detección del Internal Control RNA no es necesaria en este caso debido a que las concentraciones altas de amplicón pueden dar lugar a una señal débil o ausente del Internal Control RNA.

El SARS-CoV-2 no es detectable si el ARN no presenta señal de amplificación, pero se puede ver una señal de amplificación del Internal Control RNA en el sistema de detección. La inhibición de la reacción de PCR se puede excluir por la detección del Internal Control RNA.

Una muestra no es válida si el ARN de la muestra y el Internal Control RNA no muestran una señal de amplificación en el sistema de detección. Hay inhibidores de la PCR en la muestra o se produjo un error durante el proceso de extracción. La muestra extraída debe diluirse 1:10 con agua para PCR y amplificarse de nuevo, o bien, mejorar el aislamiento y la purificación de la muestra.

El límite de detección del ensayo RIDA®GENE, utilizando LightCycler® 480II, es > 50 copias / reacción. Las muestras con un valor de CT de > 35 están dentro del límite de detección. Cabe señalar que el límite de detección de la RT-PCR depende de la matriz de la muestra, el termociclador y la extracción de ARN y puede variar en consecuencia. Por lo tanto, recomendamos que estas muestras se evalúen como no concluyentes, se examinen las curvas individuales en busca de sigmoidez y se solicite una muestra de seguimiento correspondiente teniendo en cuenta los síntomas clínicos. El personal debidamente capacitado es responsable de evaluar estas muestras.

12. Limitaciones del método

1. Este ensayo está previsto solo para muestras respiratorias humanas.
2. La obtención, transporte, almacenamiento y procesamiento incorrectos de las muestras, o una carga de patógenos inferior a la sensibilidad analítica, pueden dar lugar a resultados negativos falsos.
3. La presencia de inhibidores de la PCR puede dar lugar a resultados no evaluables.
4. Las mutaciones o polimorfismos en los sitios de unión de la sonda o el cebador pueden interferir con la detección de variantes nuevas o desconocidas, y pueden dar lugar a resultados negativos falsos con RIDA®GENE SARS-CoV-2.
5. Como ocurre con todos los ensayos de PCR *in vitro*, podría detectarse un nivel sumamente bajo de las secuencias diana, por debajo del límite de detección (LD). Los resultados obtenidos no son siempre reproducibles.
6. Un resultado positivo del ensayo no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Un resultado positivo indica que el gen diana (gen E) está presente.
7. La presencia de inhibidores de RT-PCR y sustancias interferentes puede conducir a resultados falsos negativos o no válidos. No se han investigado los efectos de vacunas, terapias antivirales, antibióticos, agentes quimioterapéuticos o inmunosupresores para prevenir la COVID-19 o para tratar la infección u otras sustancias interferentes.
8. Este ensayo debe realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (GLP).
El usuario debe seguir atentamente las instrucciones del fabricante al realizar el ensayo.

13. Características de rendimiento

13.1 Precisión

La precisión del ensayo de PCR en tiempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 se determinó para los siguientes niveles de observación.

Precisión intraensayo: determinación de 5 muestras de control con 20 réplicas cada una en el LightCycler® 480II en condiciones idénticas.

Precisión interensayo: determinación de 5 muestras de control por duplicado durante 10 días hábiles por diferentes operadores en condiciones reproducibles.

Precisión interlote: las pruebas de precisión intra e interensayo se llevan a cabo en tres lotes diferentes.

Los coeficientes de variación obtenidos para las mediciones respectivas con el ensayo de PCR en tiempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 en el LightCycler® 480II fueron inferiores al 3 %

13.2 Sensibilidad analítica

13.2.1 Límite de detección del dispositivo

Para determinar el límite de detección del dispositivo, se midieron 20 réplicas de una muestra de control (50 copias/reacción) con el LightCycler® 480II. Todas las réplicas fueron positivas.

Por lo tanto, el límite de detección del dispositivo es de 50 copias/reacción.

13.2.2 Límite de detección (LD 95 %)

El límite de detección del ensayo de PCR en tiempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 se determinó en un estudio externo utilizando el MagNaPure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit y el LightCycler® 480 II. El LD 95 % determinado aquí para el ensayo de PCR en tiempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 es de 4,3 copias/ml.⁷

El límite de detección del procedimiento general depende de la matriz de la muestra, el termociclador y la extracción de ARN.

13.3 Especificidad analítica

El ensayo de PCR en tiempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 es específico para el SARS-CoV-2 humano de un hisopos nasales/faríngeos. La coincidencia de secuencias utilizando las bases de datos de nucleótidos existentes (Centro Nacional de Información Biotecnológica, NCBI) mostró especificidad para el SARS-CoV-2 y ninguna homología significativa con otros organismos.

También se probaron varios organismos. No se detectaron reactividades cruzadas con las siguientes especies (consulte la tabla 10):

Tabla 10: Ensayos de reactividad cruzada

Coronavirus humano 229E	-	Parainfluenza 1 (cepa C35)	-	Enterovirus (Tipo 71)	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Coronavirus humano OC43	-	Parainfluenza 2 (cepa Greer)	-	VSR (cepa Long)	-	<i>Bordetella pertussis</i>	-
Coronavirus humano NL63	-	Parainfluenza 3	-	VSR (cepa 9320)	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
SARS	-	Parainfluenza 4 (b, cepa CH19503)	-	Rinovirus (genogrupo A)	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-
MERS	-	Gripe A H1N1 Brisbane/59/07	-	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
Adenovirus 7, humano (cepa Gomen)	-	Gripe A H3N2 Texas/50/12	-	<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Adenovirus 1, humano (cepa Adenoid 71)	-	Gripe B/Washington/02/2019	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Metaneumovirus humano	-	Virus de la gripe B/Colorado/6/2017	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-

13.4 Sensibilidad analítica

La reactividad analítica del ensayo de RT-PCR multiplex en tiempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 se demostró utilizando el ensayo de aptitud INSTAND e.V. RV 340059 (consulte la tabla 11).

Tabla 11: Reactividad analítica

Tabla 11: Reactividad analítica					
SARS-CoV-2 RV 340059	+				

13.5 Sustancias interferentes

La presencia de inhibidores de RT-PCR y sustancias interferentes puede conducir a resultados falsos negativos o no válidos. Por lo tanto, se examinaron los efectos de varias sustancias que podrían estar presentes en las muestras correspondientes debido al uso generalizado en infecciones respiratorias o la ocurrencia generalizada (consulte la tabla 12).

Tabla 12: Sustancias interferentes

Ingrediente activo/producto farmacéutico	Concentración
Etanol	5 % [v/v]
Clorhidrato de guanidina	5 % [p/v]
Azitromicina	84 mg/ml
Mucina	60 µg/ml
Xilometazolina/aerosol nasal ratiopharm®	10 % [v/v]
Dipropionato de beclometasona	10 % [v/v]
Paracetamol	10 mg/ml
Amoxicilina	1 mg/ml
Sangre humana	2 % [v/v]
Dihidrocodeína	10 % [v/v]

Las sustancias enumeradas en la tabla 12 no mostraron ningún efecto de interferencia en las concentraciones probadas.

14. Historial de versiones

Número de versión	Sección y designación
2020-07-27	Versión anterior
2022-01-28	Revisión 1. Uso previsto 3. Principio del ensayo 13.3 Especificidad analítica

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de ensayos
	Fecha de fabricación

Símbolos específicos del ensayo

No aplicable

16. Bibliografía

1. <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Ausbrueche/respiratorisch/Pneumonien-China.html>. Zugriff am 24.01.2020
2. <https://www.spiegel.de/wissenschaft/medizin/covid-19-weltgesundheitsorganisation-verkuendet-neuen-namen-des-coronavirus-a-810ce436-7081-43d2-b8e0-f0b315503e0b>. Zugriff am 12.02.2020
3. <https://covid19.who.int/> Zugriff am 11.05.2020
4. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Fallzahlen.html. Zugriff am 11.05.2020
5. <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Ausbrueche/respiratorisch/Pneumonien-China.html>. Zugriff am 03.02.2020
6. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>. Zugriff am 11.05.2020
7. van Kasteren, Puck B., et al. "Comparison of commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19." bioRxiv (2020)