

Instrucciones de uso

MaxCoV19 **SPID**

Catálogo #	Formato
TAGF01004-S	96 reacciones / Strips
TAGF01008-SL	480 reacciones / Strips
TAGF01004-P	96 reacciones / Placa



Fabricado por: TAAG Genetics S.A.
Río Refugio 9641 - Núcleo Empresarial ENEA,
Pudahuel - Santiago, Chile

1.- DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y USO PREVISTO

El Kit de detección MaxCoV19 SPID, es un sistema de RT-PCR diseñado para la detección cualitativa de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 en muestras de saliva y vías respiratorias (tales como hisopado nasofaríngeo, orofaríngeo y nasal) recolectadas de individuos sospechosos de COVID-19. Los resultados permiten la identificación del ARN de 2019-nCoV.

El kit MaxCoV19 SPID facilita el proceso de RT-PCR, ya que contiene todos los componentes necesarios para la reacción precargados, lo que permite su uso en laboratorios de baja complejidad.

El Kit contiene todos los primers y sondas necesarias para la detección simultánea de la región NI del gen N de SARS-CoV-2, el gen E de SARS-CoV-2 y el gen de la RNasa P humana (RP) utilizada como control interno.

Los resultados negativos no excluyen la infección por 2019-nCoV y no deberían ser utilizados como una base sólida para decisiones relacionadas con el manejo de pacientes. Los resultados negativos deben ser combinados con observaciones clínicas, historial del paciente e información epidemiológica.

2.- PRINCIPIOS TÉCNICOS

Descripción de las etapas del Test:

- El ARN extraído desde muestras de saliva o de vías respiratorias (tales como hisopado nasofaríngeo, orofaríngeo y nasal) es obtenido utilizando el kit PureRNA (TAAG Genetics, Catálogo # TAGE01003) o kit VTB-Q (TAAG Genetics, Catálogo #TAGC01007).
- El RNA extraído de la muestra se utiliza como templado para realizar la reacción de rRT-PCR multiplex en tiempo real. El RT-PCR están basado en tecnología TaqMan® y utiliza el fluoróforo FAM para la detección de NI de SARS-CoV-2, el fluoróforo HEX para la detección del gen E de SARS-CoV-2 y el fluoróforo ROX para la detección del gen RNasa P humano (RP).
- La amplificación se puede realizar en cualquiera de los siguientes equipos de PCR en tiempo Real AriaMx (Agilent), StepOnePlus™ (Applied Biosystems) o CFX96 (Bio-Rad).

3.- COMPONENTES DEL KIT MaxCoV19 SPID

- Cada pocillo de placas o strips contiene 15 uL de mix MaxCoV19 SPID

Tabla 1. Componentes del Kit MaxCoV19 SPID

Componentes	96 Muestras	480 Muestras
Mix MaxCoV19 SPID	1 placa o 12 strips	60 Strips
Positive control MaxCoV19 SPID	1 tubo con 200 uL	5 tubos con 200 uL
Negative control MaxCoV19 SPID	1 tubo con 200 uL	5 tubos con 200 uL

4.- ALMACENAMIENTO Y MANEJO DE LOS REACTIVOS

El Kit MaxCoV19 SPID debe ser almacenado a -20°C hasta su fecha de expiración, indicada en la etiqueta del kit. Evitar ciclos reiterados de descongelación. Mantener el kit alejado de la exposición de luz directa.

5.- MATERIALES E INSTRUMENTOS REQUERIDOS, PERO NO INCLUIDOS

Componentes requeridos, pero no incluidos con el kit:

- AriaMx™ Real-time PCR System (Agilent), CFX96™ (Bio-Rad) o StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Thermo Fisher).
- Kit de extracción de ARN TAAG PureRNA (TAAG Genetics; Catálogo #TAGE01003) o Kit VTB-Q (TAAG Genetics, Catálogo #TAGC01007).
- Puntas de micropipetas con filtro libres de RNAsas (P20)
- Micropipeta P20

6.- TIPO DE MUESTRA

El tipo de muestra recomendada para el Kit MaxCoV19 SPID es ARN obtenido desde muestras de saliva o de vías respiratorias, tales como hisopado nasofaríngeo, orofaríngeo o nasal.

7.- PROCEDIMIENTO**7.1. Extracción de ARN de las muestras**

La extracción de ARN se realiza utilizando el kit PureRNA (TAAG Genetics; catálogo #TAGE01003) o Kit VTB-Q (TAAG Genetics, Catálogo #TAGC01007) de acuerdo con sus Instrucciones de uso.

7.2.1. Preparación de placas o strips

Los strips/placa contienen el mix de PCR listo para su uso, solo es necesario agregar el ARN extraído de la muestra a analizar.

Transferir 5 µL de las muestras a los pocillos de la placa/strip.

Para preparar los controles, agregue 5 µL de control positivo o de control negativo a su pocillo respectivo.

Nota: Al momento de transferir el ARN de las muestras se debe tener extremo cuidado en que la punta de la pipeta no traspase la fase sólida, ya que se podría tapar la punta. SE RECOMIENDA CARGAR LA MUESTRA SOBRE LA FASE SÓLIDA Y LUEGO REALIZAR UN SPIN PARA ASEGURAR QUE LA MUESTRA ESTÁ EN CONTACTO CON LOS REACTIVOS.

Llevar la placa/strips al termociclador y cargar el programa de PCR descrito en el punto 5.1

Precaución:

- Usar una punta de pipeta diferente para cada muestra
- No etiquetar las tapas de las placas o strips de PCR, pues interfiere con la lectura del equipo.

7.2.2. Configuración del programa de PCR

- Configure el termociclador AriaMx Real-time PCR (Agilent), StepOnePlus™ Real-Time PCR (Thermo Fisher) o CFX96 (Bio-Rad). Siga las instrucciones detalladas en las Guías de Referencia del equipo.
- Seleccione los canales de fluorescencia de acuerdo a la Tabla 2 y programe el protocolo de PCR como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 2. Canales de fluorescencia para cada objetivo

	NI	RP	E
Canales de fluorescencia	FAM	ROX	HEX

Tabla 3. Condiciones de Termociclador

Temperatura	Tiempo	Ciclos
53°C	30 minutos	1
95°C	5 minutos	1
95°C	15 segundos	
58°C	30 segundos	40
Lectura en FAM, HEX y ROX		

8.- CONTROLES DE CALIDAD

Los controles que serán entregados con el kit incluyen:

- a) Un control sin templado (NTC) para ser utilizado como control negativo. Este debe ser utilizado en cada placa de ensayo para identificar posible contaminación de las muestras. Agua libre de nucleasas grado molecular es utilizado como NTC.
- b) Un control positivo de NI, E y RP que debe ser utilizado para asegurar que los reactivos e instrumentos están funcionando correctamente. El control positivo es una mezcla de plásmidos de ADN sintético que contienen el gen N del virus COVID-19, el gen E del virus COVID-19 y el gen de la RNasa P humana.

9.- INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Antes de interpretar los resultados del test, debe verificar el resultado de los controles de calidad del ensayo. Si los controles son válidos, seguir el algoritmo presentado en la Tabla 4 para la interpretación de los resultados.

1) Controles Positivo, Negativo e Interno

- Control sin templado (NTC): Los controles NTC deben ser negativos para todos los genes targets. Si alguno de los controles NTC en NI, E o RP exhiben fluorescencia positiva (Ct < 38 NI/E; Ct < 38 RP), la ejecución del RT-PCR es inválida. Repita el RT-PCR utilizando los ácidos nucleicos previamente extraídos. Si el resultado de la repetición es positivo, descontamine todas las áreas del proceso y vuelva a analizar todas las muestras.

- Control positivo (PTC): El control positivo deben ser positivos para todos los targets: NI, E y RP (Ct < 38). Si los resultados no son los esperados, el RT-PCR es inválido. Repita el RT-PCR utilizando los ácidos nucleicos previamente extraídos.

- RNase P (Control Interno): Este control debería ser positivo para el target del RP (Ct < 37 RP). La falla en la detección de la RNasa P en cualquier muestra clínica puede

Tabla 4. Algoritmo de interpretación de resultados de muestras de pacientes

NI (FAM)	Conector NI-E	E (HEX)	RP (ROX)	Interpretación
Ct NI $\leq$ 35	O	Ct E $\leq$ 35	N.A	SARS-CoV-2 Positivo
Ct NI $>$ 35 y $\leq$ 37	Y	Ct E $>$ 35 y $\leq$ 37	N.A	SARS-CoV-2 Positivo
Ct NI $>$ 35 y $\leq$ 37	Y	Ct E $\geq$ 38	N.A	Indeterminado
Ct NI $\geq$ 38	Y	Ct E $>$ 35 y $\leq$ 37	N.A.	Indeterminado
Ct NI $\geq$ 38	Y	Ct E $\geq$ 38	Ct RP $\leq$ 38	Negativo
Ct NI $\geq$ 38	Y	Ct E $\geq$ 38	Ct RP $\geq$ 38	Inválido. Re-extraer la muestra y re-analizar

indicar: extracción inadecuada de ácidos nucleicos que resulta en pérdida de ARN y/o degradación de ARN, ausencia de material celular humano suficiente debido a una recolección deficiente; o pérdida de la integridad de la muestra, incorrecta ejecución del ensayo, mal funcionamiento del equipo y/o mal uso de los reactivos.

10.- RESTRICCIONES

1. El Kit MaxCoV19 SPID está diseñado para la detección de SARS-CoV-2. El resultado es solo para referencia clínica, y el manejo clínico de pacientes debe ser considerado en combinación con sus síntomas/signos, historial y otros análisis de laboratorio y respuestas al tratamiento.

2. Aunque las secuencias targets de este kit son las regiones conservadas del gen N y E de SARS-CoV-2, la detección errónea de otros tipos de coronavirus con mutaciones en estas regiones no puede ser descartado completamente.

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

tratamiento u otras decisiones relacionadas con el manejo de pacientes. No se han determinado los tipos óptimos de muestras y tiempos requeridos para alcanzar los niveles virales máximos durante las infecciones causadas por SARS-CoV-2.

11. SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos pueden aparecer en el etiquetado o en este documento:



Dispositivo médico de diagnóstico in vitro



Fabricante



Número de catálogo



Lote