



Ciudad de México,

03 FEB 2021

Oficio No. DGE-DSAT-01500 -2021

Asunto: Informe de evaluación comparativa preliminar.

Luis Eduardo López Orduña

Director Científico

AmpliBio, S. A. de C.V.

Av. San Jerónimo 1172, Local 1, Col. San Jerónimo Lídice
D.T. Magdalena Contreras C.P. 10200, Ciudad de México

Presente

En respuesta a su atenta solicitud de fecha 22 de junio de 2020, para la evaluación del producto **"Easy® SARS-CoV-2"**, con número de catálogo: **RT020**, fabricado por Diatech Pharmacogenetics srl a Socio Unico, ubicado en Via Ignazio Silone, 1b 60035 Jesi (AN) Italy, se expide el siguiente resultado.

Procedimiento de Evaluación.

Para verificar el desempeño analítico del producto **"Easy® SARS-CoV-2"** (véase Foto 1), se utilizó el reactivo con números de lote **RT020/A20/03** y **RT020/A20/05**. Para la verificación de la especificidad se utilizaron muestras positivas a diferentes virus respiratorios. La verificación del límite de detección se realizó utilizando un extracto de RNA total cuantificado (con carga viral determinada) y obtenido a partir de una muestra positiva al virus SARS-CoV-2 utilizando el equipo **CFX96™ Touch Real-Time PCR Detection System** (BIO-RAD) (véase Foto 2).



Foto 1. Estuche de Diagnóstico "Easy® SARS-CoV-2".



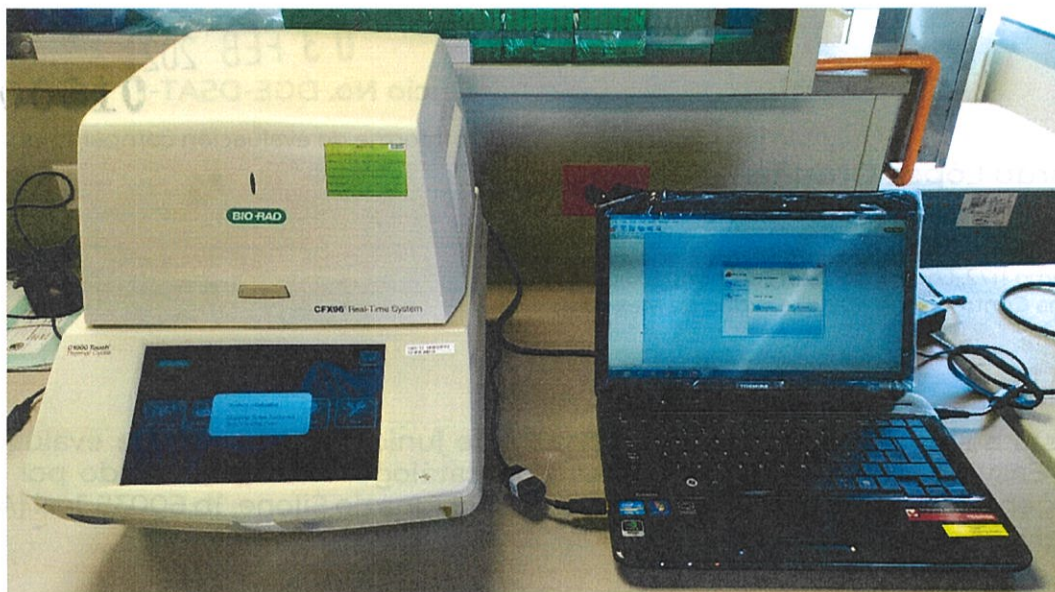


Foto 2. CFX96™ Touch Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD).

El estuche de diagnóstico "Easy® SARS-CoV-2" está previsto para la detección cualitativa del ARN del SARS-CoV-2 mediante una técnica de RT-PCR en tiempo real en un solo paso mediante muestras de hisopado nasofaríngeo, orofaríngeo, esputo y lavado broncoalveolar. Amplifica dos genes específicos del SARS-CoV-2: el gen N, RdRP y un gen de control endógeno humano. La amplificación del gen de control permite verificar el procedimiento de amplificación, la cantidad de ARN de entrada y la posible presencia de inhibidores, que pudieran provocar falsos negativos. Se requiere del "Software de Análisis EsayPGX®".

Resultados del Desempeño Analítico.

Sensibilidad (límite de detección).

Se analizaron diferentes concentraciones del extracto de RNA cuantificado, utilizando tres réplicas por cada valor de concentración. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 1. Verificación de la sensibilidad

Blanco genético viral	Resultado esperado	Resultado observado	
	Concentración	Concentración teórica	% Positivos / total de réplicas
Gen N	5 copias / reacción	5 copias / reacción	3 / 3 (100)
Gen RdRP	5 copias / reacción	5 copias / reacción	1 / 3 (33.5)





Especificidad.

Se utilizó el panel de verificación NATtrol™ Respiratory Verification Panel 2 marca ZeptoMetrix Corporation con número de catálogo NATRVP2-BIO. Los resultados fueron:

Tabla 2. Verificación de la especificidad

Clave	Resultado de la técnica estándar del INBRE	Resultado observado "Easy® SARS-CoV-2"
1	<i>B. pertussis</i> cepa A639	Negativo
2	<i>B. paraptussis</i> cepa A747	Negativo
3	<i>C. pneumoniae</i> cepa CWL-029	Negativo
4	<i>M. pneumoniae</i> cepa M129	Negativo
5	Negativo	Negativo
6	Rhinovirus 1A	Negativo
7	Coronavirus HKU-1	Negativo
8	Coronavirus NL63	Negativo
9	Coronavirus OC43	Negativo
10	Coronavirus 229E	Negativo
11	Metapneumovirus 8 cepa Peru6-2003	Negativo
12	Virus parainfluenza tipo 3	Negativo
13	Virus parainfluenza tipo 4	Negativo
14	Virus sincicial respiratorio A2	Negativo
15	Adenovirus tipo 1	Negativo
16	Adenovirus tipo 3	Negativo
17	Adenovirus tipo 31	Negativo
18	Influenza A H1	Negativo
19	Influenza A H3 cepa A/Brisbane/10/07	Negativo
20	Influenza A H1N1pdm cepa A/NY/02/09	Negativo
21	Influenza B cepa B/Florida/02/06	Negativo
22	Virus parainfluenza tipo 1	Negativo
23	Virus parainfluenza tipo 2	Negativo





Reproducibilidad entre lotes.

Se analizaron 40 réplicas del control positivo utilizando estuches de tres lotes diferentes (RT020/A20/03 y RT020/A20/05), considerando 20 réplicas por cada uno. Al analizar los valores de CT (*Cycle Threshold*) se obtuvieron los siguientes resultados de coeficiente de variación (CV):

Tabla 3. Verificación de la reproducibilidad

Blanco genético viral	Precisión intralote			Precisión interlote	
	% CV esperado (variabilidad intraensayo)	% CV obtenido Lote RT020/A20/03	% CV obtenido Lote RT020/A20/05	% CV esperado (variabilidad interensayo)	% CV obtenido
Gen N	<5	0.77	0.44	<5	0.60
Gen RdRP	<5	1.02	0.43	<5	0.73

Repetibilidad.

Se analizaron diferentes concentraciones del extracto de RNA cuantificado, utilizando tres réplicas en un análisis hecho por el mismo operador, con el mismo lote de reactivos. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 4. Verificación de la repetibilidad

Blanco genético viral	Concentración	Positivos / réplicas	% Positivos
Gen N	100,000 copias / reacción	3 / 3	100
	10,000 copias / reacción	3 / 3	100
	1,000 copias / reacción	3 / 3	100
	250 copias / reacción	3 / 3	100
	100 copias / reacción	3 / 3	100
Gen RdRP	100,000 copias / reacción	3 / 3	100
	10,000 copias / reacción	3 / 3	100
	1,000 copias / reacción	3 / 3	100
	250 copias / reacción	3 / 3	100
	100 copias / reacción	3 / 3	100

Validez externa.

Se analizó el panel de calificación AccuPlex™ SARS-CoV-2 Reference Material Kit marca seracare con número de catálogo 0505-0126. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:





Tabla 5. Resultados del panel de tercera opinión

Vial	Resultado esperado	Resultado observado	Acuerdo
1	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positive*	Sí
2	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positive*	Sí
3	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positive*	Sí
4	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positive*	Sí
5	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positive*	Sí
6	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 not positive	Sí
7	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 not positive	Sí
8	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 not positive	Sí
9	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 not positive	Sí
10	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 not positive	Sí

**Estos resultados se refieren a la presencia del material genético SARS-CoV-2, más no a la detección del control interno RNAsaP posiblemente al diseño de iniciadores para este blanco genético.*

Comentarios finales.

- Para la evaluación se utilizó el inserto versión: 2020/05, el cual no está incluido en el kit. De acuerdo a la guía rápida RT020/2020 puede hacerse el análisis de resultados con el software EasyPGX® analysis.
- La prueba cuenta con la detección de un control endógeno (gen de origen humano), que permite garantizar la toma y conservación de la muestra, así como el proceso de extracción de ácidos nucleicos y la integridad del material genético obtenido.
- El análisis de resultados se realizó con el software EasyPGX® analysis software versión 4.0.2.
- El software no detecta la amplificación del control endógeno en todas las diluciones utilizadas para sensibilidad, probablemente a una competencia entre los marcadores, este comportamiento no se observó en muestras clínicas negativas.
- Se observó concordancia de los resultados obtenidos en el panel de referencia NATtrol Respiratory Verification Panel 2 en cuanto a la ausencia del material genético SARS-CoV-2.
- Se observó concordancia de los resultados obtenidos en el panel de referencia AccuPlex™ en cuanto a la presencia y ausencia del material genético SARS-CoV-2.





- Se observó concordancia en los resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad para el gen N.
- No observó concordancia en los resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad para el gen RdRP.

Validez.

Esta evaluación es provisional en apoyo a la emergencia por la pandemia de la enfermedad COVID-19, declarada por la OMS el día 11 de marzo del 2020, y será válida únicamente durante la duración de la misma. Al término de ésta, la validez de esta evaluación quedará automáticamente cancelada y será necesario realizar una evaluación completa para uso posterior.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e

Directora de Servicios y Apoyo Técnico del InDRE
InDRE

M. en G.S. Lucía Hernández Rivas

Directora de Diagnóstico y Referencia del

Biol. Irma López Martínez

C.c.p. Biol. Irma López Martínez. Directora de Diagnóstico y Referencia del InDRE.
Dr. Noé Escobar Escamilla. Jefe del Laboratorio de Transferencia de Métodos Moleculares del InDRE.
MIBB. Hiram Olivera Díaz. Coordinador del Área de Enfermedades Emergentes y Urgentes del InDRE.
Dr. José Ernesto Ramírez González. Encargado de la Unidad de Desarrollo Tecnológico e Investigación Molecular del InDRE.

Sección/Serie: 6S.17
LHR/ILM/NEE/HOD/JEPD/cgp*/gmrr*

