



Ciudad de México,

03 FEB 2021

Oficio No. DGE-DSAT-01498-2021.

Asunto: Informe de evaluación comparativa preliminar.

**Octavio P. García González**  
**Director General**  
**Genes2Life SAPI de CV**  
Blvd. Euquerio Guerrero 278, Col. Tabachines  
Irapuato C.P. 36615, Guanajuato

## Presente

En respuesta a su atenta solicitud de fecha 03 de noviembre de 2020, para la evaluación del producto "**CoviFlu Kit Multiplex**" con número de referencia: G2LCoFM-04, fabricado por Genes2Life SAPI de CV, ubicado en Blvd. Euquerio Guerrero 278, Col. Tabachines Irapuato C.P. 36615, Guanajuato, se expide el siguiente resultado.

## Procedimiento de Evaluación.

### Pruebas para verificación del desempeño analítico.

Para verificar el desempeño analítico del producto (véase Fotos 1 y 2), se utilizó reactivo con números de lote KCF050121.3 y KCF050121.2. La verificación de la especificidad analítica se realizó utilizando un panel comercial de 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 y para la verificación del virus de influenza se utilizaron cultivos celulares con CT (Cycle Threshold) conocido. El equipo utilizado para el estudio fue el CFX96™ Touch Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD). (véase Foto 3).



Fotos 1 y 2. Estuche de Diagnóstico "CoviFlu Kit Multiplex"





Foto 3. CFX96™ Touch Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD)

El estuche "CoviFlu Kit Multiplex" está diseñado para el diagnóstico de Influenza A, Influenza B y COVID-19, mediante la detección específica de marcadores moleculares en una sola reacción de RT-qPCR, utilizando muestras de hisopados nasofaríngeos u orofaríngeos, saliva o esputo aisladas de pacientes con síntomas y signos de infección respiratoria. La detección se lleva a cabo usando oligonucleótidos y sondas que hibridan con la nucleocápside (N) del virus SARS-CoV-2 y con la región genética para las proteínas de la matriz (M) de los virus de influenza A e Influenza B, respectivamente y se realiza a través de la retrotranscripción y posterior amplificación en tiempo real de la secuencia diana, produciéndose ambas reacciones en el mismo tubo. A partir del RNA extraído de la muestra se sintetiza DNA complementario (cDNA) a cada secuencia diana por medio de la acción de la retrotranscriptasa. Posteriormente se realiza la detección de SARS-CoV-2 mediante la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los oligonucleótidos y las sondas fluorescentes.

#### Resultados del Desempeño analítico.

#### Sensibilidad (Límite de detección).

En el caso de la detección del virus SARS-CoV-2, 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	50 copias / reacción	50 copias /reacción	3 / 3 (100)







Para estimar la sensibilidad de la detección de los virus Influenza se utilizaron extractos de RNA obtenidos a partir de cultivos celulares con valores de CT (*Cycle Threshold*) conocidos y determinados por las pruebas de detección de referencia. Se realizaron diluciones seriadas de los extractos y se analizaron por triplicado. Los resultados de reactividad fueron los siguientes:

**Tabla 2. Comparación de la sensibilidad en la detección de los virus influenza**

Extracto de RNA	Influenza A H1N1pdm09		Influenza B linaje Victoria	
	Valor de CT Técnica de referencia*	% Positivos / total de réplicas	Valor de CT Técnica de referencia*	% Positivos / total de réplicas
Stock	19.9		16.4	
Dilución 1	19.9	3 / 3 (100)	19.7	3 / 3 (100)
Dilución 2	23.2	3 / 3 (100)	23	3 / 3 (100)
Dilución 3	26.5	3 / 3 (100)	26.3	3 / 3 (100)
Dilución 4	29.8	3 / 3 (100)	29.6	3 / 3 (100)
Dilución 5	33.1	3 / 3 (100)	32.9	3 / 3 (100)
Dilución 6	36.4	3 / 3 (100)	36.2	3 / 3 (100)
Dilución 7	39.7**	2 / 3 (66.6)	39.5**	1 / 3 (33.3)

\*Los valores de CT de las diluciones son teóricos.

\*\* Diluciones con valor de CT cercano a los límites de detección de las pruebas de referencia del laboratorio.

### Reproducibilidad entre lotes.

Se analizaron 40 réplicas del control positivo utilizando estuches de dos lotes diferentes (KCF050121.2 y KCF050121.3) 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**

Virus	Blanco genético viral	Precisión intralote			Precisión interlote	
		% CV esperado	% CV obtenido Lote KCF050121.2	% CV obtenido Lote KCF050121.3	% CV esperado	% CV obtenido
SARS-CoV-2	Gen N	<5	0.52	0.87	<5	0.64
Influenza A	Gen M	<5	0.47	0.75	<5	0.47
Influenza B	Gen M	<5	0.70	0.96	<5	0.78





### 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 / total de 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

### Validez externa.

Se analizó el panel de referencia AccuPlex™ SARS-CoV-2, Flu A/B and RSV Verification Panel marca seracare con número de catálogo 0505-0183. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

**Tabla 5. Resultados del panel de tercera opinión**

Vial	Resultado esperado	Resultados observado	Acuerdo
1	Positivo a SARS-CoV-2, Inf A/B RSV negativo	POSITIVO influenza A, B y COVID-19 RSV negativo	Sí
2	Positivo a SARS-CoV-2, Inf A/B RSV negativo	POSITIVO influenza A, B y COVID-19 RSV negativo	Sí
3	Positivo a SARS-CoV-2, Inf A/B RSV negativo	POSITIVO influenza A, y COVID-19 RSV negativo	No*
4	Negativo a SARS-CoV-2, Inf A/B y RSV	Negativo a SARS-CoV-2, Inf A/B y RSV	Sí

\*Solo se detectaron 2 virus: influenza A y COVID-19







### 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 6. Verificación de la especificidad**

Clave	Resultado esperado	Resultado observado CoviFlu Kit Multiplex
1	Virus parainfluenza tipo 2	Negativo
2	Virus parainfluenza tipo 1	Negativo
3	Influenza B cepa B/Florida/02/06	Positivo Influenza B
4	Influenza A H1N1pdm cepa A/NY/02/09	Positivo Influenza A
5	Influenza A H3 cepa A/Brisbane/10/07	Positivo Influenza A
6	Influenza A H1 cepa A/New Cal/20/99	Positivo Influenza A
7	Virus parainfluenza tipo 3	Negativo
8	Virus parainfluenza tipo 4	Negativo
9	Virus sincicial respiratorio A2	Negativo
10	Adenovirus tipo 1	Negativo
11	Adenovirus tipo 3	Negativo
12	Adenovirus tipo 31	Negativo
13	Coronavirus HKU-1	Negativo
14	Coronavirus NL63	Negativo
15	Coronavirus OC43	Negativo
16	Coronavirus 229E	Negativo
17	Metapneumovirus 8 cepa Peru6-2003	Negativo
18	Rhinovirus 1A	Negativo
19	<i>B. pertussis</i> cepa A639	Negativo
20	<i>B. parapertussis</i> cepa A747	Negativo
21	<i>C. pneumoniae</i> cepa CWL-029	Negativo
22	<i>M. pneumoniae</i> cepa M129	Negativo
23	Negativo	Negativo

### Comentarios finales.

- La prueba cuenta con la detección de un control endógeno (gen de origen humano RNAsa P), 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 instructivo no menciona como proceder al presentarse un resultado invalido.
- Se observó concordancia en los resultados obtenidos del panel de referencia NATtrol Respiratory Verification Panel 2.
- Se observó concordancia en tres de los cuatro viales del panel AccuPlex™ SARS-CoV-2, Flu A/B and RSV verification panel número de referencia catálogo 0505-0183, esto debido a la concentración del RNA.
- El instructivo no menciona el límite de detección, el cual esta descrito en el reporte de validación del estuche (50cp/ reacción) para los 3 agentes virales.
- Se observó concordancia en los resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad para SARS-CoV-2.
- Se observaron resultados esperados de sensibilidad para influenza A y B, tomando en cuenta el valor de corte <38 como positivo.

**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.

Atentamente

Directora de Servicios y Apoyo Técnico del InDRE

Directora de Diagnóstico y Referencia del InDRE

M. en G.S. Lucía Hernández Rivas

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 Emergencias 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/JERC/maa/gmrr/cgp\*

Francisco de P. Miranda No. 177, Col. Lomas de Plateros, D.T. Alvaro Obregón, CD.MX  
Tel: (55) 5342 7550 y (55) 5062 1600 Ext. 59570 y 59406 [www.gob.mx/salud](http://www.gob.mx/salud)

