



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud
Dirección General de Epidemiología
Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
"Dr. Manuel Martínez Báez" (InDRE)

Ciudad de México,

31 MAR 2021

Oficio No. DGE-DSAT-04983 -2021

Asunto: Informe de evaluación comparativa preliminar.

Adriana Ballesca Estrada
Directora de Laboratorio
Bioresearch de México, S. A. de C.V.

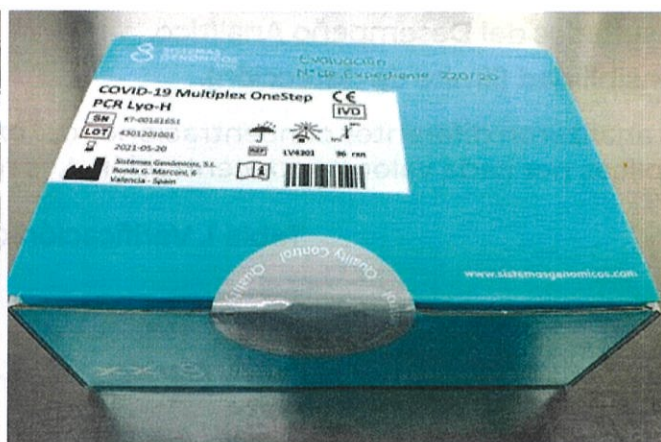
San Luis Tltilco 5, Fraccionamiento Industrial Naucalpan
Naucalpan de Juárez C.P. 53370, Estado de México

Presente

En respuesta a su atenta solicitud de fecha 29 de septiembre de 2020, para la evaluación del producto **"COVID-19 Multiplex One Step PCR Lyo-H"**, con número de catálogo: **LV4301**, fabricado por **Sistemas Genómicos S. L.** ubicado en Ronda G. Marconi, 6, Parque Tecnológico de Valencia, 46980 Paterna (Valencia) España, se expide el siguiente resultado.

Procedimiento de Evaluación.

Para verificar el desempeño analítico del producto **"COVID-19 Multiplex One Step PCR Lyo-H"**, (véase Fotos 1 y 2), se utilizó el reactivo con números de lote 4301201203 y 4301201205. La verificación de la especificidad analítica se realizó utilizando un panel comercial de diferentes virus respiratorios y la verificación del límite de detección 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 QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) (véase Foto 3).



Fotos 1 y 2. Estuche de Diagnóstico "COVID-19 Multiplex One Step PCR Lyo-H"



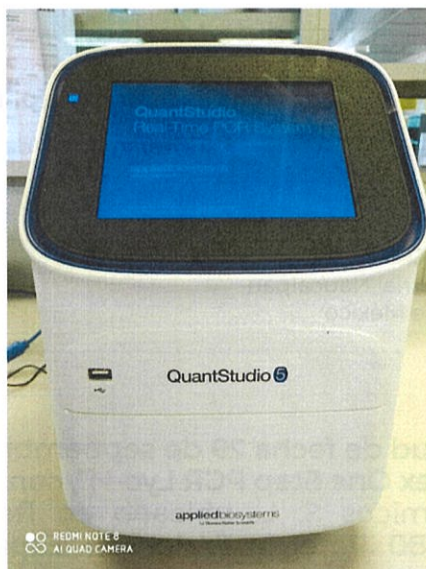


Foto 3. QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems).

El estuche de diagnóstico "COVID-19 Multiplex One Step PCR Lyo-H", permite la detección del SARS-CoV-2 a partir de muestras respiratorias y de saliva, el kit detecta dos regiones conservadas del genoma de los marcos de lectura *Orfla* y *Orflb*, que codifican sendas poliproteínas no estructurales implicadas en la replicación viral, se incluye un control interno de extracción y amplificación a partir de ADN heterólogo. Además, incluye un sistema independiente de comprobación de presencia y calidad de ARN humano en la muestra, mediante la amplificación del gen de la RNasa P humano.

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 ORFla	25 copias / reacción	25 copias / reacción	3 / 3 (100)
Gen ORFlb	25 copias / reacción	25 copias / reacción	3 / 3 (100)





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 InDRE	Resultado observado "COVID-19 Multiplex One Step PCR Lyo-H"
1	Virus parainfluenza tipo 2	SARS-CoV-2 Negativo
2	Virus parainfluenza tipo 1	SARS-CoV-2 Negativo
3	Influenza B cepa B/Florida/02/06	SARS-CoV-2 Negativo
4	Influenza A H1N1pdm cepa A/NY/02/09	SARS-CoV-2 Negativo
5	Influenza A H3 cepa A/Brisbane/10/07	SARS-CoV-2 Negativo
6	Influenza AH1 A/New Cal	SARS-CoV-2 Negativo
7	Coronavirus NL63	SARS-CoV-2 Negativo
8	Adenovirus tipo 3	SARS-CoV-2 Negativo
9	Adenovirus tipo 1	SARS-CoV-2 Negativo
10	Virus sincicial respiratorio A2	SARS-CoV-2 Negativo
11	Virus parainfluenza tipo 4	SARS-CoV-2 Negativo
12	Virus parainfluenza tipo 3	SARS-CoV-2 Negativo
13	Rhinovirus 1A	SARS-CoV-2 Negativo
14	Metapneumovirus 8 cepa Peru6-2003	SARS-CoV-2 Negativo
15	Coronavirus 229E	SARS-CoV-2 Negativo
16	Coronavirus OC43	SARS-CoV-2 Negativo
17	Adenovirus tipo 31	SARS-CoV-2 Negativo
18	Coronavirus HKU-1	SARS-CoV-2 Negativo
19	<i>B. pertussis</i> cepa A639	SARS-CoV-2 Negativo
20	<i>B. parapertussis</i> cepa A747	SARS-CoV-2 Negativo
21	<i>C. pneumoniae</i> cepa CWL-029	SARS-CoV-2 Negativo
22	<i>M. pneumoniae</i> cepa M129	SARS-CoV-2 Negativo
23	Negativo	SARS-CoV-2 Negativo





Reproducibilidad entre lotes.

Se analizaron 40 réplicas del control positivo utilizando estuches de dos lotes diferentes (4301201203 y 4301201205), 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	% CV obtenido Lote 4301201203	% CV obtenido Lote 4301201205	% CV esperado	% CV obtenido
Gen ORFla	<10	1.339	1.377	<10	1.371
Gen ORFlb	<10	1.435	1.122	<10	1.270

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 ORFla	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 ORFlb	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 Molecular Controls Kit – Full Genome marca seracare con número de catálogo 0505-0159. 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 positivo	Sí
2	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positivo	Sí
3	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positivo	Sí
4	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positivo	Sí
5	Positivo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 positivo	Sí
6	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 negativo	Sí
7	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 negativo	Sí
8	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 negativo	Sí
9	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 negativo	Sí
10	Negativo a SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 negativo	Sí

Comentarios finales.

- La prueba cuenta con la detección de un control interno sintético para monitorear la extracción de ácidos nucleicos y para identificar la posible inhibición de la reacción de amplificación. Además, el estuche incluye reactivo para la detección de un control interno de origen humano (RNAsa P). Sin embargo, el inserto indica realizar el análisis de RNAsa P únicamente "como control de calidad aleatorio y semanal" (página 15). Por lo tanto, esta condición no permite garantizar la adecuada toma y conservación en todas las muestras analizadas de forma rutinaria.
- El estuche evaluado no contiene inserto dentro del estuche. Para fines de esta evaluación, la interpretación de resultados se realizó con base en lo descrito en el inserto proporcionado por el solicitante PU_LV4301_ESP_V07, con fecha de revisión marzo de 2021. Por esta razón, la validez de los resultados se limita a la interpretación realizada conforme a la versión del inserto mencionada anteriormente.
- El inserto describe el flujo de trabajo para la presentación del estuche en placa. Sin embargo, esta evaluación se llevó a cabo en la presentación de tiras de tubos, por





lo que la validez de los resultados obtenidos se limita únicamente al estuche con número de catálogo LV4301.

- Se observó concordancia entre los valores de límite de detección declarados por el fabricante y los obtenidos experimentalmente.
- Se observó concordancia entre los valores de especificidad declarados por el fabricante y los obtenidos experimentalmente.
- Se observó concordancia entre los valores de reproducibilidad declarados por el fabricante y los obtenidos experimentalmente.
- Se observó concordancia en los resultados obtenidos en el panel de referencia.

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.

Atentamente

Directora de Servicios y Apoyo Técnico del InDRE
InDRE

M. en C.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/JBRO/cgp*/gmrr*

