

Ciudad de México, 30 JUL 2021

Oficio No. DGE-DSAT-11024 -2021

Asunto: Informe de evaluación comparativa preliminar.

Federico Guillermo Lozano Blackaller
Director General
Kabla Comercial, S. A. de C.V.
Calle Loma Blanca No. 2900, Col. Deportivo Obispaño
Monterrey C.P. 64040, Nuevo León

Presente

En respuesta a su atenta solicitud de fecha 24 de marzo de 2021, para la evaluación del producto "Flu A, Flu B & SARS-CoV-2", con números de catálogo: VS-ABC106L, VS-ABC106H, VS-ABC112L, VS-ABC112H, VS-ABC113L, VS-ABC113H, VS-ABC136, VS-ABC172, fabricado por CerTest BIOTEC, S. L., ubicado en Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840 San Mateo de Gállego, Zaragoza (España), se expide el siguiente resultado.

Procedimiento de Evaluación.

Para verificar el desempeño analítico del producto "Flu A, Flu B & SARS-CoV-2" (véase Fotos 1 y 2), se utilizó el reactivo con número de referencia VS-ABC112L y número de lote ABC112L-002. La evaluación analítica consistió en la verificación de la especificidad analítica 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, para los virus de influenza se realizó utilizando cultivos celulares con CT (Cycle Threshold) conocido, utilizando el equipo CFX96™ Touch Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD). (véase Foto 3).



Fotos 1 y 2. Estuche de Diagnóstico "Flu A, Flu B & SARS-CoV-2"

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

PRUEBA ÚTIL PARA EL DIAGNÓSTICO DE SARS-CoV-2 & INFLUENZA A/B





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

El estuche "Flu A, Flu B & SARS-CoV-2" está diseñado para la detección cualitativa de RNA de Influenza A, Influenza B y/o SARS-CoV-2 en frotis nasofaríngeo y orofaríngeo de individuos sospechosos de infección respiratoria. El RNA es extraído a partir de especímenes respiratorios, posteriormente el DNA complementario es sintetizado en un solo paso y amplificado mediante PCR a tiempo real. La detección se lleva a cabo a través de la retrotranscripción y posterior amplificación a tiempo real de la secuencia diana, produciéndose ambas reacciones en el mismo pocillo. Tras el aislamiento del RNA, se sintetiza el DNA complementario a la secuencia diana gracias a la retrotranscriptasa. Posteriormente la identificación de Influenza A, Influenza B y SARS-CoV-2 se lleva a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando oligonucleótidos específicos y una sonda marcada con fluorescencia que hibridan con una región diana conservada del gen M1 para Influenza A y B con dos regiones diana conservada del gen N (N1 y N2) para SARS-CoV-2. Cuenta con un control interno endógeno (gen RNase P presente en el DNA humano) para controlar el proceso de extracción y/o descartar la inhibición de la actividad polimerasa.

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 de SARS-CoV-2	Resultado esperado	Resultado observado	
	Concentración	Concentración teórica	% Positivos / total de réplicas
Gen N (N1 y N2)	10 copias / reacción	10 copias / reacción	0 / 3 (0%)

Para estimar la sensibilidad de los virus de influenza se utilizaron extractos de RNA obtenidos a partir de muestras de cultivos con valores de CT (*Cycle Threshold*) conocidos y determinados por las pruebas de detección y referencia. Los resultados de reactividad fueron los siguientes:

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

Influenza A H1N1pdm09		Influenza B linaje Victoria.	
Valor de CT teórico de la dilución	% Positivos "Flu A, Flu B & SARS-CoV-2" / total de replicas	Valor de CT teórico de la dilución	% Positivos "Flu A, Flu B & SARS-CoV-2" / total de replicas
23.2	3 / 3 (100)	27.4	3 / 3 (100)
26.6	3 / 3 (100)	30.7	3 / 3 (100)
30.6	3 / 3 (100)	34.0	3 / 3 (100)
33.9	3 / 3 (100)	37.3	3 / 3 (100)
37.6*	3 / 3 (100)	38.5*	3 / 3 (100)

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

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 3. Verificación de la repetibilidad

Blanco genético viral de SARS-CoV-2	Concentración	Positivos / total de réplicas	% Positivos
Gen N (N1 y N2)	10,000 copias / reacción	3 / 3	100
	1,000 copias / reacción	3 / 3	100
	250 copias / reacción	3 / 3	100

Especificidad.

Se utilizó el panel de verificación NATrol™ Respiratory Verification Panel 2 marca ZeptoMetrix Corporation con número de catálogo NATRVP2.1-BIO. Los resultados fueron:

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

PRUEBA ÚTIL PARA EL DIAGNÓSTICO DE SARS-CoV-2 & INFLUENZA A/B





Tabla 4. Verificación de la especificidad

Clave	Resultado de la técnica estándar del InDRE	Resultado observado "Flu A, Flu B & SARS-CoV-2"
1	Virus parainfluenza tipo 2	RNA molde diana no Detectado
2	Virus parainfluenza tipo 1	RNA molde diana no Detectado
3	Influenza B cepa B/Florida/02/06	Influenza B RNA Detectado
4	Influenza A H1N1pdm cepa A/NY/02/09	Influenza A RNA Detectado
5	Influenza A H3 cepa A/Brisbane/10/07	Influenza A RNA Detectado
6	Influenza AH1/ New Cal	Influenza A RNA Detectado
7	Coronavirus NL63	RNA molde diana no Detectado
8	Adenovirus tipo 3	RNA molde diana no Detectado
9	Adenovirus tipo 1	RNA molde diana no Detectado
10	Virus sincicial respiratorio A2	RNA molde diana no Detectado
11	Virus parainfluenza tipo 4	RNA molde diana no Detectado
12	Virus parainfluenza tipo 3	RNA molde diana no Detectado
13	Rhinovirus 1A	RNA molde diana no Detectado
14	Metapneumovirus 8 cepa Peru6-2003	RNA molde diana no Detectado
15	Coronavirus 229E	RNA molde diana no Detectado
16	Coronavirus OC43	RNA molde diana no Detectado
17	Adenovirus tipo 31	RNA molde diana no Detectado
18	Coronavirus HKU-1	RNA molde diana no Detectado
19	B. pertussis cepa A639	RNA molde diana no Detectado
20	B. parapertussis cepa A747	RNA molde diana no Detectado
21	C. pneumoniae cepa CWL-029	RNA molde diana no Detectado
22	M. pneumoniae cepa M129	RNA molde diana no Detectado
23	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 RNA Detectado
24	Negativo	RNA molde diana no Detectado



Validez externa.

Se analizaron los paneles de referencia AMPLIRUN® RNA CONTROL: SARS-CoV-2 (MBC137-R), INFLUENZA A H1N1 (MBC082) e INFLUENZA B (MBC030) marca vircell. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 5. Resultados del panel de tercera opinión

Vial	Resultado esperado	Resultados observados	Acuerdo
1	SARS-CoV-2 Detectado	SARS-CoV-2 RNA Detectado	Sí
2	Influenza AH1N1 Detectado	Influenza A RNA Detectado	Sí
3	Influenza B Detectado	Influenza B RNA Detectado	Sí

Comentarios finales.

- Se utilizó el instructivo versión IU-ABC012enes1020 rev.00.
- No se observó concordancia entre el valor de límite de detección declarado por el fabricante y el obtenido experimentalmente en el caso del virus SARS-CoV-2.
- En el ensayo de comparación de la sensibilidad se observó una reactividad equiparable a las pruebas estándar del InDRE en el caso de los virus influenza A e influenza B.
- En el caso de los virus de influenza, el estuche demostró una reactividad equiparable a las pruebas estándar del InDRE. Sin embargo, para influenza A se observaron 1 a 2 CT mayores en comparación con la técnica de referencia, por lo cual es probable que muestras con CT mayores a 38 no puedan ser detectadas.
- Se observó concordancia entre los valores de especificidad declarados por el fabricante y los obtenidos experimentalmente.
- El estuche contiene un control interno de origen humano (RNAsaP) que garantiza la toma y conservación de la muestra.
- La mezcla de reacción se encuentra liofilizada en cada tubo, facilitando la preparación, transporte y almacenamiento del estuche.
- Se observó concordancia en los resultados obtenidos del panel de referencia NATtrol Respiratory Verification Panel 2.1.

Francisco de P. Miranda No. 177, Col. Lomas de Plateros, D.T. Álvaro Obregón, C.D. MX
Tel: (55) 5342 7550 y (55) 5062 1600 E et. 59570 y 59406 www.gob.mx/salud

PRUEBA ÚTIL PARA EL DIAGNÓSTICO DE SARS-CoV-2 & INFLUENZA A/B





- Los resultados obtenidos en el panel de referencia AMPLIRUN® RNA CONTROL fueron concordantes.

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

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/cgp*/gmrr*/maa*

