

Ciudad de México,

23 JUL 2020

Oficio No. DGE-DSAT-09084 -2020

Asunto: Informe de evaluación comparativa preliminar.

Francisco Barriga
Coordinador de Servicios Administrativos
Applied Biosystems de México S. de R.L. de C.V.
Av. Insurgentes Sur 863 Piso 9, Col. Nápoles
D.T. Benito Juárez, C.P. 03810, Ciudad de México

Presente

En respuesta a su atenta solicitud de fecha 22 de mayo de 2020, para la evaluación del producto **"TaqPath™ COVID-19 RT-PCR Kit" (CE-IVD)**, con número de referencia: A48067, fabricado por Life Technologies Corporation, ubicado en 6055 Sunol Blvd, Pleasanton, CA 94566, se expide el siguiente resultado.

Procedimiento de Evaluación.

Para verificar el desempeño analítico del producto **"TaqPath™ COVID-19 RT-PCR Kit" (CE-IVD)** (véase Foto 1), se utilizó reactivo con números de lote 1826517 y 1843165. La verificación de la especificidad analítica se realizó utilizando muestras positivas a diferentes virus respiratorios y el límite de detección se realizó con 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 2).



Foto 1. Estuche de Diagnóstico **"TaqPath™ COVID-19 RT-PCR Kit" (CE-IVD)**



Foto 2. Equipo QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

"TaqPath™ COVID-19 RT-PCR Kit" (CE-IVD) contiene los reactivos y controles para el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) destinada a la detección cualitativa de ácido nucleico del SARS-CoV-2 en muestras de vías respiratorias superiores (hisopos nasofaríngeos, orofaríngeos, nasales de cornetes medios y aspirados nasofaríngeos) así como muestras de lavado broncoalveolar (BAL) de individuos sospechosos de COVID-19. En el proceso, las sondas se alinean a tres secuencias blanco, ORF 1ab, Gen N y Gen S que son específicas del SARS-CoV-2.

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
ORF 1ab	10 copias / reacción	10 copias / reacción	1 / 3 (33.3)
Gen N	10 copias / reacción	10 copias / reacción	3 / 3 (100)
Gen S	10 copias / reacción	10 copias / reacción	2 / 3 (66.6)



Especificidad.

Se utilizó 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 esperado	Resultado "TaqPath™ COVID-19 RT-PCR Kit" (CE-IVD)
1	Influenza A H1N1 cepa A/New Caledonia/20/99	Negativo
2	Influenza A H3 cepa A/Brisbane/10/07	Negativo
3	Influenza A H1N1pdm cepa A/NY/02/09	Negativo
4	Influenza B cepa B/Florida/02/06	Negativo
5	Metapneumovirus 8 cepa Peru6-2003	Negativo
6	Virus sincicial respiratorio A	Negativo
7	Rhinovirus 1A	Negativo
8	Virus parainfluenza tipo 1	Negativo
9	Virus parainfluenza tipo 2	Negativo
10	Virus parainfluenza tipo 3	Negativo
11	Virus parainfluenza tipo 4	Negativo
12	Adenovirus tipo 3	Negativo
13	Coronavirus NL63	Negativo
14	Coronavirus 229E	Negativo
15	Coronavirus OC43	Negativo
16	Coronavirus HKU-1	Negativo
17	<i>M. pneumoniae</i> cepa M129	Negativo
18	<i>C. pneumoniae</i> cepa CWL-029	Negativo
19	<i>B. pertussis</i> cepa A639	Negativo
20	Adenovirus tipo 31	Negativo
21	Adenovirus tipo 1	Negativo
22	<i>B. paraptussis</i> cepa A747	Negativo
23	Negativo	Negativo

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	Concentración	Positivos / total de réplicas	% Positivos
ORF 1ab	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 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 S	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

Reproducibilidad entre lotes.

Se analizaron 20 réplicas del control positivo utilizando estuches de dos lotes diferentes (1826517 y 1843165) en el mismo día y por dos operadores diferentes. Al analizar los 40 valores de CT (*Cycle Threshold*) se obtuvieron los siguientes resultados de coeficiente de variación (CV):

Tabla 4. Verificación de la reproducibilidad

Blanco genético viral	% CV esperado	Precisión intralote		Precisión interlote
		% CV obtenido Lote 1826517	% CV obtenido Lote 1843165	% CV obtenido
ORF 1ab	< 5	0.60	0.65	0.63
Gen N	< 5	0.45	0.45	0.49
Gen S	< 5	0.66	0.45	0.58





Validez externa.

Se analizó el panel de referencia AccuPlex™ SARS-CoV-2 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	Positivo a SARS-CoV-2*	Sí
2	Positivo a SARS-CoV-2	Positivo a SARS-CoV-2*	Sí
3	Positivo a SARS-CoV-2	Positivo a SARS-CoV-2*	Sí
4	Positivo a SARS-CoV-2	Positivo a SARS-CoV-2*	Sí
5	Positivo a SARS-CoV-2	Positivo a SARS-CoV-2*	Sí
6	Negativo a SARS-CoV-2	Negativo a SARS-CoV-2	Sí
7	Negativo a SARS-CoV-2	Negativo a SARS-CoV-2	Sí
8	Negativo a SARS-CoV-2	Negativo a SARS-CoV-2	Sí
9	Negativo a SARS-CoV-2	Negativo a SARS-CoV-2	Sí
10	Negativo a SARS-CoV-2	Negativo a SARS-CoV-2	Sí

**Considerando únicamente la detección del gen N para asignar la positividad debido a la naturaleza sintética del panel. El resultado de estas muestras en el programa de interpretación fue "SARS-CoV-2 Inconclusive".*

Comentarios finales.

- La prueba cuenta con la detección de un control interno para monitorear el proceso de extracción de ácidos nucleicos e identificar la posible inhibición de la reacción de amplificación. No obstante, no incluye la detección de un control endógeno (gen de origen humano), por lo que un resultado interpretado como "negativo" no permite garantizar la toma y conservación de la muestra.
- Para la interpretación de resultados se requiere el análisis mediante el programa "Applied Biosystems COVID-19 Interpretive Software" que se descarga de manera gratuita al adquirir el producto. Es importante verificar que el termociclador y su programa de análisis utilizados para el diagnóstico de rutina sean compatibles con el programa de interpretación.
- El inserto no incluye un valor de CT de corte para la interpretación de resultados por lo que esta se realiza de forma automatizada, mediante el uso del programa mencionado anteriormente.





SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



2020
LEONA VICARIO
BENEFICIA MADRE DE LA PATRIA

**Subsecretaría de Prevención
y Promoción de la Salud**

Dirección General de Epidemiología

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

"Dr. Manuel Martínez Báez" (InDRE)

- Se observó concordancia entre los valores de límite de detección declarados por el fabricante, de forma consistente únicamente en el caso del gen N.
- Se observó concordancia entre los valores de especificidad 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

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/mgm*/cgp*