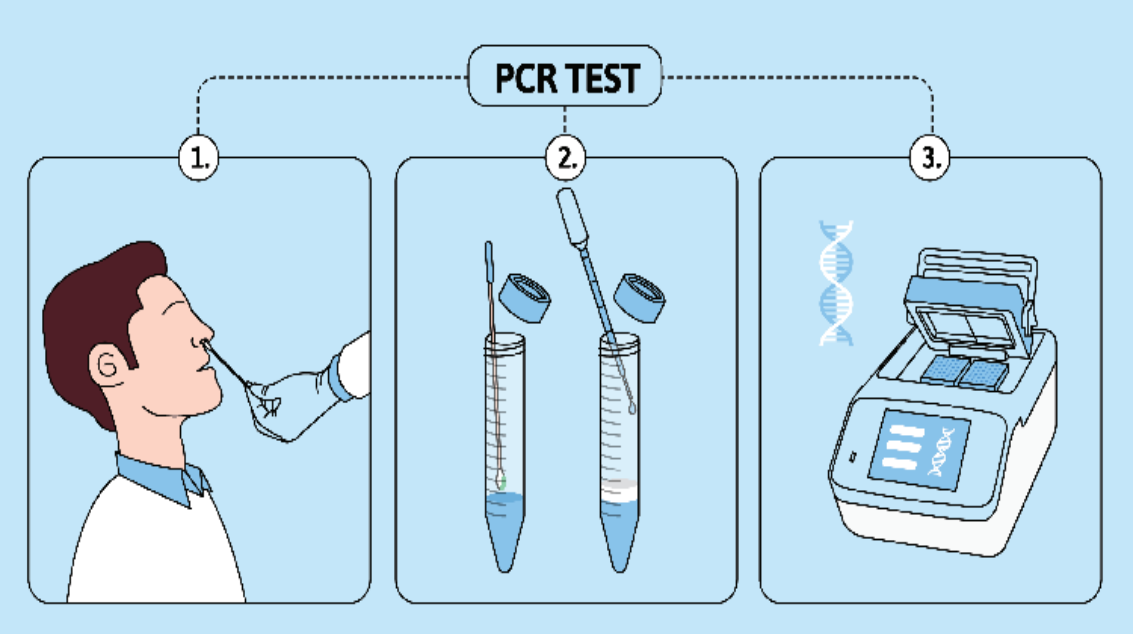
ANEXO I

PRUEBAS PCR Y PRUEBAS RAPIDAS

ANTICOVID ESPECIAL IMBIODENT



Tres pruebas PCR para la detección de anticuerpos contra el SARS-CoV-2

Pruebas ELISA para detección cualitativa de SARS-CoV-2 Ab

Las pruebas serológicas para la detección de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 son un complemento valioso para la detección de ARN, ya que permiten determinar la seroprevalencia de una población, rastrear la exposición previa e identificar donantes humanos altamente reactivos para la generación de suero convaleciente.

La proteína espiga del SARS-CoV-2, que contiene las subunidades S1 y S2, es la principal proteína de superficie utilizada para unirse a un receptor, que actúa como una puerta para que el genoma del virus ingrese a una célula humana.

Las pruebas ELISA para la detección de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 están utilizando las características de la proteína de la punta SARSCoV-2 mediante la aplicación de antígenos SARSCoV-2 recombinantes expresados en células insecto, que incluyen N-proteína, S1-RBD y S2-ECD.

Las pruebas para la detección de anticuerpos totales resp. Las IgM están destinadas a determinar el estado de infección de un paciente, mientras que la prueba de IgG permite la monitorización de pacientes convalecientes.

Los tres pueden procesarse con equipos de ELISA semiautomáticos y totalmente automatizados.

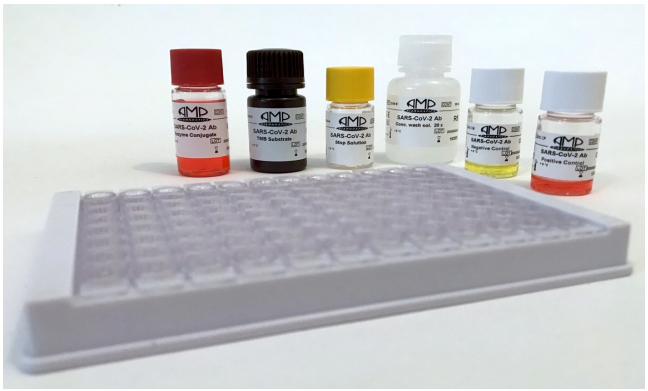
IMBIODENT
Avda. Las Torres Nº96 L-4. 50008 Zaragoza (España) Tfno (+34) 976 258970
info@imbiodent.com - www.imbiodent.com

CARACTERISTICAS PRUEBA PCR

	ELISA Test SARS_CoV² igG	ELISA Test SARS_CoV² igM	ELISA Test SARS_CoV² Ab
Principio prueba	Indirecto EIA	Captura EIA	Sandiwich doble antígeno EIA
Material muestra	Suero, plasma	Suero, plasma	Suero, plasma
Volumen muestra	10 µL	10 µL	10 µL
tiempo de ensayo	70 minutos	70 minutos	70 minutos
Sensitividad	95,90 %	100%	100%
Especificidad	98,46 %	99,87 %	99,2 %

Ilustración del virion SARS-CoV-2, fuente: Center for Disease Control and Prevention, Public Health Image Library (PHIL), ID #23312, Alissa Eckert, MS; Dan Higgins, MAM

Características y Beneficios:
- Tecnología EIA probada y confiable
- Proteínas N, S1-RBD y S2-ECD aplicadas
- Sin manipulación de material genético viral: simple recogida de muestras de rutina (suero/ plasma)
- Resultados positivos también para muestras de baja carga viral
- Tiempo de ensayo corto (70 minutos)
- Reactivos líquidos listos para usar
- Excelente rendimiento y confiabilidad



Prueba rápida de SARS-CoV-2 IgG / IgM

La Prueba rápida SARS-CoV-2 IgG / IgM es una prueba inmunocromatográfica rápida para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) en sangre completa, suero y plasma como ayuda en el diagnóstico rápido y eficiente de la enfermedad del virus Corona 2019 (COVID-19).

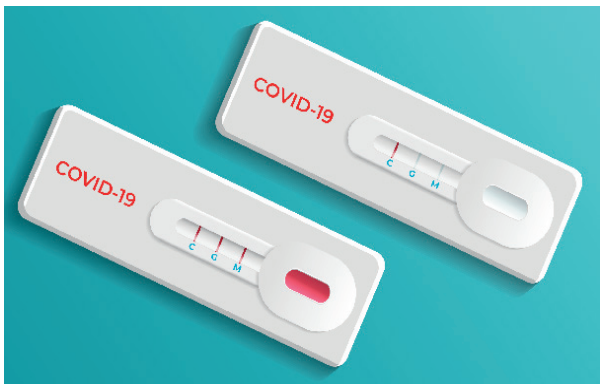
La prueba es fácil de usar y puede realizarse incluso sin la disponibilidad de un entorno de laboratorio. Como el resultado está disponible en 10 minutos, la prueba es una herramienta valiosa para un cribado eficiente en caso de sospecha de infección por SARS-CoV-2.

Los estudios clínicos en comparación con RT-PCR evidenciaron una alta sensibilidad y especificidad de las pruebas IgG e IgM.

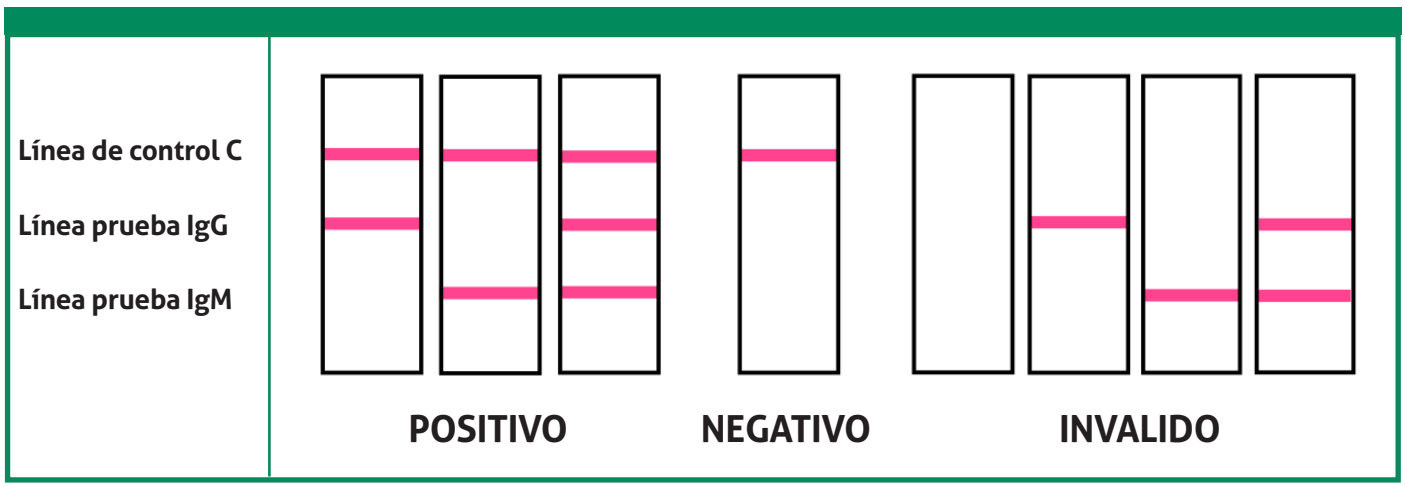
Las prueba rápidas constan de dos casetes IgS & IgM de SARS-CoV-2 se empaquetan individualmente en bolsas selladas que incluyen una pipeta desechable. El kit incluye Buffer para las pruebas.

CARACTERISTICAS PRUEBA RAPIDA

Material muestra	Suero, y plasma (5 µL), sangre (10 µL)
Tiempo de lectura	10-15 minutos
Sensitividad IgM	95,70 %
Especificidad IgM	97,30 %
Total	96,80%
Sensitividad IgG	91,80%
Especificidad IgG	96,40%
Total	95%



Interpretacion de los resultados de las pruebas rápidas



Instrucciones de uso prueba rápida SAR-CoV-2 IgM/IgM

USO PREVISTO

Prueba inmunocromatográfica rápida para la detección cualitativa de los anticuerpos IgG e IgM para el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) en muestras de sangre completa, suero y plasma humanos como herramienta para diagnosticar la infección por coronavirus (Covid-19).

PRINCIPIO

La prueba se realiza aplicando la muestra de sangre completa, suero o plasma al pocillo de muestra (S) del casete y observando la formación de líneas coloreadas.
Los anticuerpos IgG/IgM del SARS-CoV-2 se detectan utilizando una combinación de anti-IgG humana, anti-IgM humana y antígenos recombinantes del SARS-CoV-2 en conjunto con oro coloidal, conjugados de oro e IgG de conejos, así como anti-IgG de conejo cabra en la región de control (C).
La muestra migra por efecto capilar a lo largo de la membrana. Los anticuerpos IgG al SARS-CoV-2 se adhieren al conjugado del SARSCoV-2, y los captura la anti-IgG humana con la formación de una línea de color en la región de la prueba de IgG (T).
Los anticuerpos IgM al SARS-CoV-2 se adhieren al conjugado del SARS-CoV-2, y los captura la anti-IgM humana con la formación de una línea de color en la región de la prueba de IgM (T).
La presencia de esta línea de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia muestra uno negativo.
Como control de procedimientos, tiene que aparecer una línea de color en la región de control (C), lo que confirma que se ha absorbido una muestra suficiente.

COMPOSICIÓN

Casete de prueba en un envase individual, desecante,

IMBIODENT
Avda. Las Torres Nº96 L-4. 50008 Zaragoza (España) Tfno (+34) 976 258970
info@imbiodent.com - www.imbiodent.com

pipeta desechable, amortiguador

PRECAUCIONES
- Solo para uso en diagnósticos profesionales in vitro.
- Solo para uso externo. No tragar.
- Las muestras pueden ser infecciosas y, por lo tanto, deben tratarse con cuidado.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras; para ello, use un nuevo recipiente de recogida para cada muestra que se obtenga.
- La prueba está diseñada para un solo uso. Deséchela después de utilizarla de acuerdo con la normativa local o los criterios del laboratorio para desechar los residuos potencialmente infecciosos.
- No emplee el casete de prueba una vez transcurrida la fecha de caducidad.
- No emplee el casete de prueba si se ha perforado la bolsa o no está sellada correctamente.
- La humedad y la temperatura pueden afectar a los resultados.
- Mantener fuera del alcance de los niños.
- Use ropa protectora: batas de laboratorio, guantes y protección ocular.
- No realice la prueba en una habitación con un fuerte flujo de aire, un ventilador eléctrico o aire acondicionado con funcionamiento intenso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD
Cuando se guarda en una bolsa sellada a 2-30 °C y se protege de la luz solar directa, la humedad y el calor, el casete de prueba permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada.
NO CONGELAR.
Recuerde proteger los componentes del kit frente a la contaminación.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS
Para realizar la prueba, se puede utilizar sangre completa recogida por medio de punción del pulpejo del dedo o venipunción, así como suero y plasma.
Punción del pulpejo del dedo:
1. Limpie el punto de punción con un hisopo y alcohol, y déjelo secar.
2. Masajee la mano sin tocar el punto de punción para estimular la perfusión.
3. Puncione el punto con una aguja estéril y limpie la primera muestra de sangre.
4. Masajee suavemente la mano desde la muñeca al dedo, pasando por la palma, para formar una gota redonda de sangre en el punto de punción.
Se debe probar de inmediato la muestra de sangre completa obtenida por punción del pulpejo del dedo.
Venipunción:
Para recoger sangre completa, use EDTA, heparina o citrato de sodio como anticoagulante.
Separe el suero o el plasma cuanto antes para evitar la hemólisis. Utilizar solo muestras claras no hemolizadas.
Efectúe la prueba cuanto antes. No deje la muestre a temperatura
ambiente durante un tiempo prolongado.
Sangre completa:
Se puede almacenar a 2-8 °C hasta 2 días.
No congelar las muestras de sangre completa.
Suero o plasma:
Se pueden almacenar a 2-8 °C hasta 3 días.
Para almacenarla a largo plazo, conserve la
muestra por debajo de -20 °C.
Ponga la muestra a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. No congele y descongele las muestras repetidamente.

PROCEDIMIENTO
El casete de la prueba, el amortiguador y la muestra deben encontrarse a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) antes de la prueba.

1. Extraiga el casete de la prueba de la bolsa de aluminio y colóquelo en una superficie plana y limpia.

Para obtener resultados óptimos, debe realizarse el examen en el plazo de una hora.

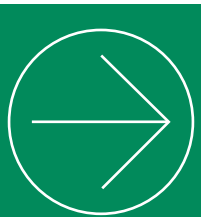
2. Suero o plasma:
Sostenga la pipeta desechable en vertical y extraiga la muestra por la línea de muestra (5 µl), transfiérala al pocillo de muestras (S) del casete y añada 2 gotas de amortiguador (aprox. 80 µl) al pocillo del amortiguador (B) de inmediato. Evite la formación de burbujas de aire.

Nota: A fin de garantizar una mayor precisión, utilice la pipeta de precisión para obtener un volumen de muestra de 5 µl.

Sangre completa:
Sostenga la pipeta desechable en vertical y extraiga una muestra de alrededor de 1 cm por encima de la línea de llenado (aprox. 10 µl), transfiérala al pocillo de muestras (S) del casete y añada 2 gotas de amortiguador (aprox. 80 µl) al pocillo del amortiguador (B) de inmediato. Evite la formación de burbujas de aire.

3. Espere a que aparezcan las líneas de color y lea el resultado de la prueba una vez pasados 10 minutos.

IMPORTANTE: No lea el resultado si han transcurrido 15 minutos.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

IgG positivo (+)
Dos líneas de color aparecen en la membrana. Una aparece en el control (C); y la otra, en la región de prueba de IgG (T). El resultado es IgG anti-SARS-CoV-2 positivo.

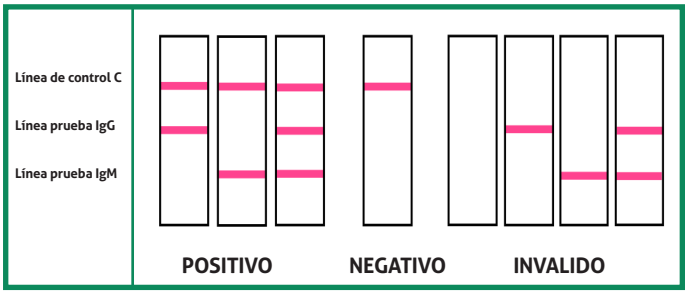
IgM positivo (+)
Dos líneas de color aparecen en la membrana. Una aparece en el control (C); y la otra, en la región de prueba de IgM (T). El resultado es IgM anti-SARS-CoV-2 positivo.

IgG e IgM positivo (+)
Tres líneas de color aparecen en la membrana. Una aparece en el control (C); y las otras dos, en la región de prueba de IgG e IgM (T). El resultado es IgG e IgM anti-SARS-CoV-2 positivo.

Nota: La intensidad del color de la línea que aparezca en la región de prueba (T) puede variar según la concentración de anticuerpos del SARS-CoV-2 presente en la muestra. Por tanto, toda tonalidad de colorque se observe en la región de prueba (T) debe considerarse un resultado positivo.

Negativo (-)
Solo aparece una línea en la región de control (C). No se observan líneas en la región de prueba de IgG/IgM (T).
Inválido Si solo se observa una línea de color en la región de prueba (T), o no hay ninguna línea de color, la prueba es inválida y debe repetirse con un nuevo casete de prueba.

Nota: Entre las causas más comunes de los resultados inválidos, se encuentran un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto y pruebas caducadas.



CONTROL DE CALIDAD

Aunque la propia prueba incluye un control procedimental interno, se recomienda encarecidamente emplear controles externos como parte de las buenas prácticas de laboratorio, a fin de confirmar y verificar el procedimiento y la realización correcta de la prueba. Los controles deben probarse siguiendo el mismo procedimiento que se aplica a las muestras del paciente. Los controles positivos y negativos deben producir los resultados esperados.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La prueba es solo para uso en diagnósticos profesionales in vitro, y debe emplearse para la detección cualitativa de anticuerpos IgG/IgM del SARS-CoV-2 en muestras humanas de sangre completa, suero o plasma.

Deben utilizarse muestras frescas siempre que sea posible. Las muestras congeladas y descongeladas contienen partículas que pueden bloquear la membrana. Esto desacelera el flujo de los reactivos y puede producir un color intenso del fondo, obstaculizando la interpretación de los resultados.

Para un funcionamiento óptimo, se ha de seguir el procedimiento de la prueba de manera estricta. Si no lo hace, pueden darse resultados anómalos.

Un resultado negativo indica la ausencia de anticuerpos anti-SARS-CoV- 2 detectables. Sin embargo, esto no excluye la posibilidad de exponerse al SARS-CoV-2 o infectarse de él.

Puede producirse un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 presente en la muestra es inferior a los límites de detección de la prueba, o si los anticuerpos no están presentes durante la fase de la enfermedad en que se recoge la muestra.

Las muestras que tengan titulaciones inusualmente altas de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar a los resultados.

En cuanto a todas las pruebas diagnósticas, los resultados solo los debe interpretar un médico tras evaluar todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

RENDIMIENTO

Sensibilidad y especificidad:
La prueba rápida de AMP de IgG/IgM SARS-CoV-2 se ha verificado en comparación con RT-PCR. A continuación, se indican la sensibilidad, la especificidad y la correlación entre ambos métodos:

Prueba de IgM
- Sensibilidad de prueba: 95,7 %
- Especificidad de prueba: 97,3 %
- Concordancia general: 96,8 %

Prueba de IgG
- Sensibilidad de prueba: 91,8 %
- Especificidad de prueba: 96,4 %
- Concordancia general: 95,0 %

PRUEBA CUALITATIVA

Solo para uso en diagnósticos profesionales *in vitro*

Muestra:	Sangre completa, suero, plasma
Lectura:	Visual
Temperatura:	Temperatura ambiente
Almacenamiento:	2 °C-30 °C, bien protegida frente a la humedad, la luz y el calor

CE

IVD

REF	CONT
	10 casetes
	25 casetes
	50 casetes

EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS DE LA ETIQUETA Y EL ENVASE

	Límite de temperatura/Almacenar a
REF	Código
IVD	Para uso en diagnósticos *in vitro*
CONT	Contenidos del kit
LOT	Número de lote
	Fecha de caducidad (último día del mes)
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso
	No reutilizar

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization (WHO). WHO Statement Regarding Cluster of Pneumonia Cases in Wuhan, China. Beijing: WHO; 9 Jan 2020. [Accessed 26 Jan 2020]. https://www.who.int/china/news/detail/09-01-2020-who-statement-regarding- cluster-of-pneumonia-cases-inwuhan-china

2. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. Adv Virus Res 2011;81:85-164. PMID:22094080 DOI:10.1016/B978-0-12-385885-6.00009-2

3. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. Trends Microbiol 2016;24:490-502. PMID:27012512 DOI:10.1016/j.tim.2016.03.003

4. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol 2019;17:181-192. PMID:30531947 DOI:10.1038/s41579-018-0118-9

5. World Health Organization (WHO) - Coronovirus. https://www.who.int/health-topics/coronavirus