



Instrucciones de uso

Imegen® Neumo ViralDx

REF

IMG-386

CE

IVD



AEMPS [N° 2019 09 0061 EN]

Fabricado por:
Instituto de Medicina Genómica SL
Agustín Escardino 9,
Parc Científic de la Universitat de València
46980 Paterna (Valencia, España)
+34 963 212 340 - info@imegen.es

Rev.1 16.11.2020

 **imegen**

A part of healthincode

Imegen le garantiza que todos sus productos están libres de defectos, tanto en los materiales empleados como en su proceso de fabricación.

Esta garantía se hace extensible hasta la fecha de caducidad, siempre que se observen las condiciones de conservación especificadas en este manual.

Nuestros productos están diseñados para uso en diagnóstico *in vitro*. Imegen no le ofrece ninguna otra garantía, expresa o implícita, que se extienda más allá del funcionamiento correcto de los componentes de este kit. La única obligación de Imegen, respecto de las garantías precedentes, será la de reemplazar los productos, o bien devolver el precio de la compra de los mismos, a voluntad del cliente, siempre y cuando se pruebe la existencia de un defecto en los materiales o en la fabricación de sus productos. Imegen no será responsable de ningún daño, directo o indirecto que resulte en pérdidas económicas o en daños que pudieran producirse por el uso indebido de este producto por parte del comprador o usuario.

Todos los productos comercializados por Imegen son sometidos a un riguroso control de calidad. El kit **Imegen® Neumo ViralDx Kit** ha superado todas las pruebas de validación internas, que garantizan la fiabilidad y reproducibilidad de cada lote fabricado.

Para cualquier consulta sobre las aplicaciones de este producto o sobre sus protocolos, puede contactar con nuestro Departamento Técnico:

Teléfono: +34 963 212 340

e-Mail : tech.support@imegen.es

Imegen® es una marca registrada del Instituto de Medicina Genómica en España que forma parte del Grupo Health in Code.

Tabla de contenido

1	Información general.....	4
2	Uso previsto.....	5
3	Características técnicas.....	6
4	Preparación de la muestra.....	9
5	Advertencias y precauciones.....	10
6	Contenido y condiciones de almacenamiento del kit.....	11
7	Equipos y materiales necesarios que no se suministran.....	12
8	Protocolo de ensayo.....	13
8.1	Preparación de las reacciones de amplificación.....	13
8.2	Configuración del programa de PCR a tiempo real.....	14
9	Análisis de Resultados.....	16
9.1	Interpretación de resultados.....	16
10	Troubleshooting.....	19
11	Limitaciones.....	20
11.1	Equipos.....	20
11.2	Reactivos.....	20
11.3	Estabilidad del producto.....	20

1 Información general

El SARS-CoV-2 es un nuevo betacoronavirus desconocido hasta la fecha en humanos y detectado durante un brote de enfermedades respiratorias, incluida la neumonía atípica, que comenzó a mediados de diciembre de 2019 en la ciudad de Wuhan en China. El genoma del nuevo CoV emergente consiste en un solo ARN de cadena positiva que tiene aproximadamente 30k de longitud. La organización general del genoma del CoV emergente es similar a la de otros coronavirus codificando los marcos de lectura abiertos comunes a todos los betacoronavirus, incluyendo el gen ORF1ab que codifica la mayoría de proteínas enzimáticas, el gen de la glucoproteína de la superficie de la espiga (S), el gen que codifica la proteína de la envoltura pequeña (E) y el gen de la proteína nucleocápside (N) entre otros.

Dado que todas las previsiones indican que el SARS-CoV-2 estará presente en los próximos meses, la llegada otras patologías respiratorias estacionales como la gripe y el virus respiratorio sincitial (RSV), de alta incidencia en la población infantil, suponen una dificultad añadida en la tarea de identificación y aislamiento de los casos positivos de SARS-CoV-2.

Entre las principales prioridades para asegurar la salud pública está la elección de la tecnología *gold standard* para su diagnóstico. La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) recomiendan la PCR múltiplex para el diagnóstico de infecciones virales en campo respiratorio, dado que la clínica o debut clínico (fiebre, odinofagia, tos...) se presenta de forma idéntica en todos los patógenos virales.

En este sentido, el diagnóstico integral de virus respiratorios en un único ensayo multiplex de PCR, permite manejar de forma rápida y coste efectiva a un paciente con síntomas compatibles con diferentes virus respiratorios. En comparación con los sistemas actuales de diagnóstico de enfermos de COVID-19 por PCR, este ensayo supondrá la disminución en el número de diagnósticos con resultado incierto y falsos negativos, descartándose inmediatamente el SARS-COV-2 si el paciente da positivo para otro virus respiratorio.

Referencias

- Shu, Y., McCauley, J. (2017) GISAID: Global initiative on sharing all influenza data – from vision to reality EuroSurveillance, 22(13) doi:10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494 PMID: PMC5388101 Web: www.gisaid.org
- Corman VM, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveillance 2020; 25: 2000045. Web: www.eurosurveillance.org
- Procedimiento de actuación frente a casos de infección por el nuevo coronavirus (SARS-CoV-2). Web: www.mscbs.gob.es

2 Uso previsto

El Kit **Imegen® Neumo ViralDx Kit** está diseñado para detectar la presencia de ARN genómico de los virus respiratorios: SARS-CoV-2, Influenza A y B y virus respiratorio sincitial (RSV).

Este ensayo permite llevar a cabo la retrotranscripción (RT) del ARN vírico y detección mediante PCR a tiempo real (qPCR) de los genes diana, mediante una RT-qPCR en un paso único, utilizando una combinación de oligonucleótidos y sondas de hidrólisis fluorescentes multiplexadas (FAM, VIC, Cy5 y TexasRed). Las dianas del ensayo incluyen la detección de los siguientes genes específicos para cada uno de los virus respiratorios:

Coronavirus SARS-CoV-2:

- **Gen ORF1ab** que codifica la mayoría de las proteínas enzimáticas
- **Gen S** que codifica la glucoproteína de la superficie de la espiga

Influenza (Influenza A e Influenza B):

- **Gen MP** que codifica la proteína de la matriz

Virus respiratorio sincitial (RSV-A y RSV-B):

- **Gen M2-1** que codifica la proteína de la matriz

Asimismo, el kit incluye como control positivo endógeno un sistema de detección del gen **RNaseP** que codifica la ribonucleasa P humana.

Los resultados obtenidos en este ensayo permiten confirmar el diagnóstico del paciente.

El kit **Imegen® Neumo ViralDx Kit** puede emplearse para uso en diagnóstico *in vitro* y está dirigido a profesionales del sector de la virología y la biología molecular.

3 Características técnicas

El kit **Imegen® Neumo ViralDx Kit** permite la detección de SARS-CoV-2, Influenza A y B y virus respiratorio sincitial (RSV-A y RSV-B) en muestras de ARN previamente purificadas.

- **Tipo de muestra:** ARN extraído de muestras respiratorias humanas
- **Cantidad de muestra:** 10 µL ARN
- **Inclusividad:** Detección de secuencias víricas de SARS-CoV-2 (estudio de 4.115 genomas), Influenza y RSV descritas entre 2016 - 2020
- **Especificidad:** 100% frente a otros virus y bacterias humanos
- **Tiempo de ensayo (RT-qPCR):** 1h 20 min
- 4 dianas específicas detectadas en 1 mix de amplificación:

Fluoróforos	Mix 1
FAM	SARS-CoV-2
VIC	Influenza A & B
Cy5	RSV-A & RSV-B
TexasRed (ROX)	RNaseP Humana

Inclusividad genómica

El sistema de detección del **Coronavirus SARS-CoV-2** incluye la detección simultánea del gen S y del gen ORF1ab (RdRP). El diseño se llevó a cabo a partir de la información genómica existente en la base de datos GISAID, donde se muestran todas las variantes genéticas clasificadas por el país donde se detectaron, región y huésped. Los sistemas de amplificación específicos han sido diseñados sobre los 4.115 genomas de SARS-CoV-2 depositados en la base de datos de secuencias virales comisariada por la Iniciativa mundial para compartir todos los datos sobre la influenza (GISAID).

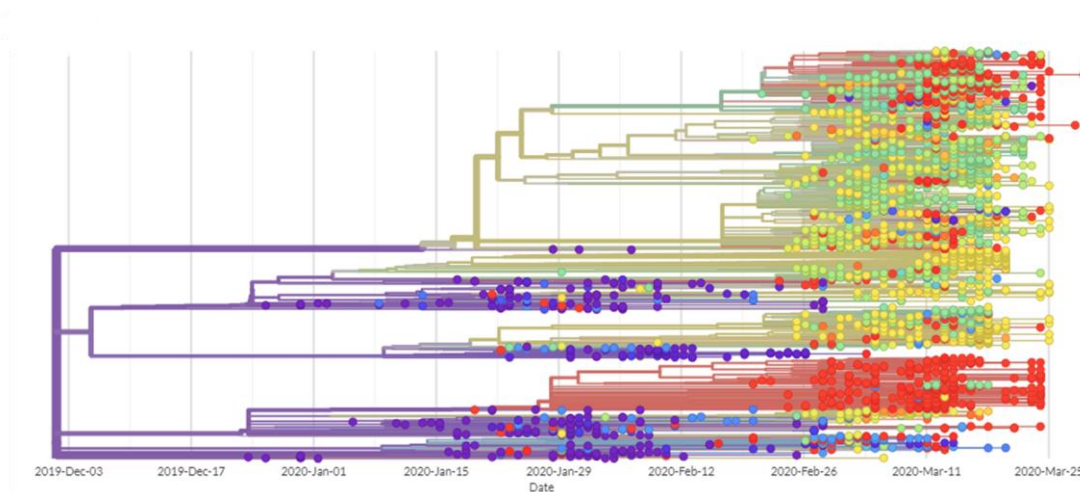


Figura 1. Gráfico de los 4115 genomas analizados entre Feb 2020 y Julio 2020.

Los sistemas de detección del **virus de la Influenza** se han llevado a cabo analizando los genomas extraídos de la base de datos EpiFlu (GISAID), Flu Database y NCBI. El estudio incluyó un total de 5.433 secuencias víricas de Influenza A y un total de 1.998 para influenza B, incluyendo las cepas vacunales de tipo celular de 2020–2021:

- A/Hawaii/70/2019 (H1N1)pdm09
- A/Hong Kong/45/2019 (H3N2)
- B/Phuket/3073/2013 (linaje B/Yamagata)
- B/Washington/02/2019 (linaje B/Victoria)

El sistema de detección del **virus respiratorio sincitial (RSV)** se ha diseñado incluyendo todos los genomas identificados desde 2016, incluyendo un total de 441 secuencias víricas extraídas de las bases de datos específicas Virus Pathogen Resources (ViPR) y NCBI.

Exclusividad genómica

Las secuencias del genoma de SARS-Cov-2 sugieren la presencia de un virus estrechamente relacionado con los miembros de una especie viral denominada CoV relacionado con el síndrome respiratorio agudo severo (SARS), una especie definida por el agente del brote 2002/03 de SARS en humanos. Por ello, se ha evaluado la especificidad de cada sistema de detección para confirmar su especificidad analítica mediante BLAST en las bases de datos públicas NCBI y GISAID.

Validación clínica

El kit ha sido validado a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos, hisopos orofaríngeos y esputos de pacientes clínicamente diagnosticados mediante un método de diagnóstico científicamente aprobado. Además, se han incluido en la validación muestras del genoma completo (ATCC, Estados Unidos) de virus de la Influenza A (H1N1, H3N2), Influenza B (Yamagata, Victoria), y virus respiratorio sincitial (RSV-A2, RSV-B), así como muestras sintéticas del genoma de SARS-CoV-2 (Twist) y vectores sintéticos certificados (GenScript) que contienen las dianas de interés. Este vector está incluido en el kit y se recomienda su uso como control positivo para verificar el funcionamiento correcto de la PCR. La validación completa proporciona un método de diagnóstico robusto y específico. Las pruebas de especificidad diagnósticas se han llevado a cabo incluyendo muestras de pacientes sanos previamente diagnosticados como tal mediante métodos de diagnóstico molecular.

Imegen es una compañía biotecnológica certificada frente a la norma **UNE-EN ISO 13485:2018 Productos Sanitarios** por AEMPS (Agencia Española del Medicamento y Producto Sanitario) para el diseño, desarrollo, fabricación y comercialización de kits de análisis genético para diagnóstico in vitro, así como para el desarrollo de software para análisis bioinformático de datos genéticos.

4 Preparación de la muestra

A continuación, destacamos algunos de los requisitos más importantes para la toma, preparación y envío de la muestra. Para más información, revise el procedimiento de actuación frente a casos de infección por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 del Ministerio de Sanidad y el Instituto de Saludo Carlos III de España.

1. **Tipo de muestra:** Esputo, lavado broncoalveolar del tracto respiratorio inferior o hisopo nasofaríngeo y orofaríngeo tomados de modo simultáneo del tracto respiratorio superior.
2. **Toma de muestra:** El tomador de la muestra debe utilizar un respirador N96 o equivalente y guantes. Se recomienda registrar el tipo de muestra y hora de la toma.
3. **Preparación de la muestra para su transporte:** Se utilizará siempre un triple envase revisando la estanqueidad de cada uno de ellos para evitar derrames durante el transporte de las muestras. Realice el transporte a 4°C.
4. **Almacenamiento de la muestra de forma previa al transporte:** Si no es posible realizar el envío de la muestra al laboratorio de análisis antes de 72h desde su toma, le recomendamos que almacene la muestra a -80°C y la transporte en hielo seco cuando sea posible.
5. **Extracción del ARN viral:** Utilice un método de extracción de ARN viral adecuado, bien sea un método manual o automatizado. Se recomienda limpiar a fondo las superficies y equipos de trabajo para eliminar nucleasas (RNase) de forma previa a iniciar el protocolo de extracción. Dependiendo del método de extracción, el rendimiento y pureza del ARN extraído puede diferir.

5 Advertencias y precauciones

1. Se recomienda seguir estrictamente las instrucciones de este manual, especialmente en cuanto a las condiciones de manipulación y almacenamiento de los reactivos.
2. No pipetear con la boca.
3. No fumar, comer, beber ni aplicarse cosméticos en las zonas donde se manipulan kits y muestras.
4. Se debe proteger debidamente cualquier afección cutánea, así como cortes, abrasiones y otras lesiones de la piel.
5. No verter los restos de reactivos a la red de agua potable. Se recomienda utilizar los contenedores de residuos establecidos por la normativa legal y gestionar su tratamiento a través de un gestor de residuos autorizado.
6. En caso de un derrame accidental de alguno de los reactivos, evitar el contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas y limpiar con abundante agua.
7. Las hojas de datos de seguridad (MSDS) de todos los componentes peligrosos que contiene este kit están disponibles bajo petición.
8. Este producto requiere la manipulación de muestras y materiales de origen humano. Se recomienda considerar todos los materiales de procedencia humana como potencialmente infecciosos y manipularlos conforme a la norma de la OSHA sobre Bioseguridad de nivel 2 de los patógenos de transmisión sanguínea o se deben utilizar otras prácticas pertinentes de bioseguridad para los materiales que contienen o se sospecha que puedan contener agentes infecciosos.
9. Los reactivos incluidos en este kit no son tóxicos, explosivos, infecciosos, radiactivos, magnéticos, corrosivos ni causantes de contaminación ambiental biológica.
10. Este kit ha sido validado con unos equipos y en unas condiciones específicas que podrían variar entre laboratorios. Se recomienda, por tanto, que cada laboratorio verifique el correcto funcionamiento del ensayo cuando se vaya a utilizar por primera vez el kit.

6 Contenido y condiciones de almacenamiento del kit

El kit contiene los reactivos necesarios para llevar a cabo 96 reacciones de RT-qPCR con cada Master Mix específico:

- **Neumo Master Mix:** Contiene los oligonucleótidos y sondas de hidrólisis para llevar a cabo la amplificación sistema específicos de SARS-CoV-2 (FAM), Influenza (VIC), RSV (Cy5) y del control endógeno humano, RNase P (TexasRed).
- **RT-PCR Master Mix:** Master Mix de PCR con los nucleótidos, MgCl₂, enzima de PCR a tiempo real y buffer necesarios para llevar a cabo la PCR a tiempo real.
- **RTasa:** Enzima retrotranscriptasa para llevar a cabo la retrotranscripción de ARN a ADN complementario (cDNA).
- **Control positivo:** Control positivo con las secuencias diana para la amplificación de las dianas de SARS-CoV-2, Influenza, RSV y el control endógeno RNaseP.

Reactivos	Color	Cantidad	Conservación
Neumo Master Mix	Tapa roja	530 µl	-20°C
RT-PCR Master Mix	Tapa blanca	385 µl	-20°C
RTasa	Tapa amarilla	48 µl	-20°C
Control Positivo	Tapa verde	100 µl	-20°C

Tabla 1. Componentes del kit Imegen® Neumo ViralDx Kit.

7 Equipos y materiales necesarios que no se suministran

Equipos:

- Termociclador de PCR a tiempo real que detecte los fluoróforos FAM, VIC, Cy5 y TexasRed
- Micropipetas de 10 μ L, 20 μ L y 200 μ L
- Vortex
- Centrífuga

Reactivos:

- Kit de extracción de ARN viral/total
- Agua libre de nucleasas

Materiales:

- Placas ópticas de 96 pocillos o tubos ópticos de 0.2 ml
- Material fungible óptico compatible con el termociclador de PCR a tiempo real
- Puntas de pipetas con filtro (10 μ L, 20 μ L y 200 μ L)
- Tubos estériles de 1.5 ml
- Guantes de látex
- Material de limpieza de superficies como RNase away
- Material necesario para la extracción de ácidos nucleicos

8 Protocolo de ensayo

8.1 Preparación de las reacciones de amplificación

1. Descongelar a temperatura ambiente todos los reactivos del kit y el ARN de las muestras y mantener en hielo una vez descongeladas.
2. Agitar cada uno de los reactivos en vórtex y mantener en frío.
3. Preparar premáster de PCR como se especifica a continuación empleando 1 tubo de 1.5 ml:

Reactivos	Volumen por reacción
Neumo Master Mix	5.5 μ L
RTase	0.5 μ L
RT-PCR Master Mix	4 μ L

NOTA: Para estimar la cantidad de reactivos necesaria en función del número de muestras y controles que se analicen de forma simultánea por run, recomendamos realizar los cálculos considerando una reacción más o bien incrementando un 10% el volumen de cada reactivo.

4. Mezclar los reactivos pipeteando varias veces, dar un spin a los mixes de PCR y dispensar 10 μ L en los correspondientes pocillos del material fungible óptico.
5. Una vez dispensados los mixes de PCR añadir a los pocillos correspondientes:
 - 10 μ L de las muestras de ARN
 - 10 μ L del control positivo
 - 10 μ L de agua libre de nucleasas (control negativo de PCR)

NOTA: Se recomienda añadir un control negativo de PCR por master mix, para descartar la contaminación de los reactivos y también un control positivo por master mix, para asegurar el correcto funcionamiento de la reacción de PCR.

6. Colocar los tubos o placas en el termociclador de PCR a tiempo real y configurar el programa de amplificación tal y como se indica en el siguiente apartado.

8.2 Configuración del programa de PCR a tiempo real

- Fluoróforos de las sondas de hidrólisis:

Sonda	Emisor	Genotipado	Quencher
SARS-CoV-2	FAM	SARS-CoV-2	MGB
RSV	Cy5	RSV-A & B	BHQ2 (None)
Influenza	VIC	Influenza A & B	MGB
RNaseP	TexasRed	Gen RNase P (Humano)	BHQ2 (None)

Tabla 2. Información de las sondas de hidrólisis

- Programa RT-PCR:

QuantStudio 5 Real-time PCR System (Applied Biosystems):

- Tipo de experimento: Quantitation-Comparative Ct
- Velocidad de rampa: Standard
- Referencia basal ROX™: NONE

CFX96 Touch Real-time PCR System (BioRad)

- Cq Determination mode: Single Threshold
- Data Analysis: Quantification

Configurar el programa de PCR según el programa óptimo ⁽¹⁾ que se indica a continuación:

Etapa	Nº de Ciclos	Temperatura	Tiempo
Retrotranscripción	1	48°C	15 minutos
Activación enzimática	1	95°C	10 minutos
PCR		95°C	5 segundos
Desnaturalización, anillamiento y extensión	40	58°C	15 segundos
		68°C	15 segundos ⁽¹⁾

Tabla 3. Programa de PCR óptimo para el QuantStudio 5 Real-Time PCR Cyclers and CFX96 Touch Real-time PCR cyclers.

(1) Adquisición de la fluorescencia

7500 FAST Real-time PCR System (Applied Biosystems):

- Tipo de experimento: Quantitation-Comparative Ct
- Velocidad de rampa: Standard
- Referencia basal ROX™: NONE

Configurar el programa de PCR según el programa óptimo ⁽¹⁾ que se indica a continuación:

Etapa	Nº de Ciclos	Temperatura	Tiempo
Retrotranscripción	1	48°C	15 minutos
Activación enzimática	1	95°C	10 minutos
PCR		95°C	5 segundos
Desnaturalización, anillamiento y extensión	40	58°C	15 segundos
		68°C	30 segundos ⁽¹⁾

Tabla 4. Programa de PCR óptimo para el equipo 7500 FAST Real-time PCR system.

[1] Adquisición de la fluorescencia

[2] En caso de disponer de otros modelos de termocicladores, consultar capítulo 11 Limitaciones.

9 Análisis de Resultados

Para un correcto análisis de los resultados se recomienda seguir las siguientes indicaciones:

- Comprobar que en los controles negativos de PCR no haya amplificación en ninguno de los canales de fluorescencia (FAM, VIC, Cy5, TexasRed). En caso de detectarse amplificación en un control negativo, se recomienda repetir el ensayo para descartar que se haya producido una contaminación accidental.
- Comprobar que en los controles positivos haya amplificación de todas las dianas: SARS-CoV-2, RSV, Influenza y el control endógeno RNaseP.
- Comprobar que en todas las muestras analizadas existe amplificación del gen endógeno humano, RNase P. La ausencia de amplificación puede indicar una baja calidad del ARN en la muestra e invalidará la obtención de conclusiones.
- Para analizar las muestras hay que emplear el software específico del termociclador de PCR a tiempo real utilizado. Se recomienda emplear el **Auto Baseline** y el **Auto Threshold** en el *setting* de análisis.

Los valores de los parámetros se basan en los controles positivos y negativos. Si se ve una señal anormal, el valor se puede ajustar consultando el manual de cada fabricante de PCR a tiempo real.

9.1 Interpretación de resultados

A continuación, se muestran los posibles resultados obtenidos con el kit **Imegen® Neumo ViralDx Kit**.

1. Verifique el valor de Ct del resultado obtenido de cada muestra.

Ensayo dianas virales	Resultados SARS-CoV-2
Ct < 38	Positivo (+)
$38 \leq Ct < 40$	Inconcluyente
Ct = Indeterminado	Negativo (-)

Tabla 5. Valores de cut-off para SARS-CoV-2.

Ensayo dianas virales	Resultados Influenza y RSV
Ct < 38	Positivo (+)
Ct ≥ 38 ó Ct = Indeterminado	Negativo (-)

Tabla 6. Valores de cut-off para Influenzas y RSV.

2. Interprete los resultados de cada muestra de siguiendo las siguientes recomendaciones:

SARS-CoV-2	Influenza	RSV	RNase P	Estado	Resultado	Acción
-	-	-	Ct < 37	Válido	No se detectan los virus analizados	Considere otras causas infecciosas asociadas al cuadro clínico.
+	-	-	Cualquier valor	Válido	Presencia de ARN de SARS-CoV-2	Informar de los resultados al sistema sanitario.
-	+	-	Cualquier valor	Válido	Presencia de ARN de Influenza A y/o B	Siga las recomendaciones del sistema sanitario.
-	-	+	Cualquier valor	Válido	Presencia de ARN de RSV-A y/o B	Siga las recomendaciones del sistema sanitario.
Dianas SARS-CoV-2 inconcluyente (Ct ≥ 38)			Cualquier valor	Válido	Resultado inconcluyente	Realice una prueba adicional de confirmación de SARS-CoV-2. Si el resultado repetido permanece inconcluyente, se recomienda realizar una prueba adicional en 48h.
Detección simultánea de varias dianas víricas			Cualquier valor	Válido	Presencia de co-infección	Informar al sistema sanitario si detecta SARS-CoV-2.
-	-	-	Ct ≥ 37	Inválido	NA	Repita la prueba. Si el resultado repetido permanece inválido, se recomienda realizar una prueba adicional de confirmación

Tabla 7. Interpretación de los resultados de Imegen® Neumo ViralDx Kit.

A continuación, incluimos algunos ejemplos de cómo se visualizan algunos resultados empleando el kit **Imegen® Neumo ViralDx Kit**:

CONTROL NEGATIVO

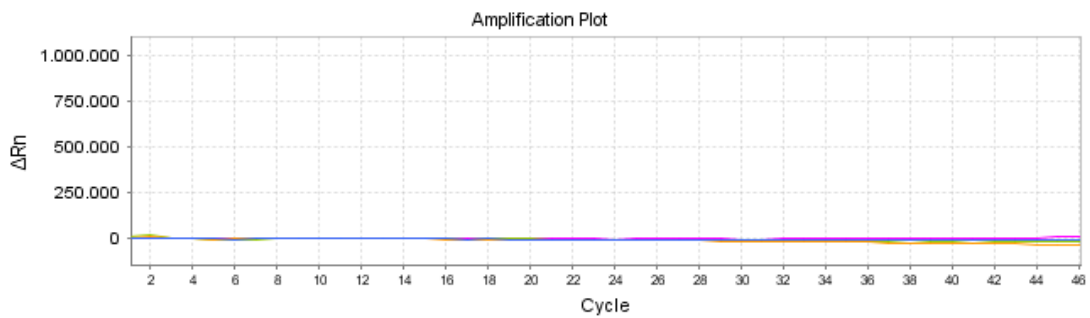


Figura 2. No se observa señal de amplificación en ningún canal de fluorescencia.

CONTROL POSITIVO

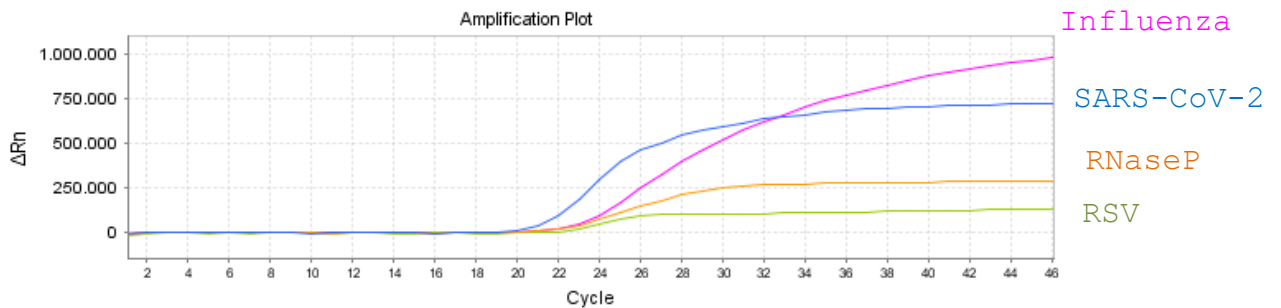


Figura 3. Resultado obtenido a partir del control positivo. La amplificación de las dianas ORFlab y/o S de SARS-Cov-2 (FAM) se muestra en azul, la amplificación de las dianas de Influenza A y/o B (VIC) en rosa, y la del gen específico del virus respiratorio sincitial (Cy5) en verde y se detecta amplificación del control positivo interno RNaseP (TexasRed), en naranja.

Ejemplo muestra Negativa:

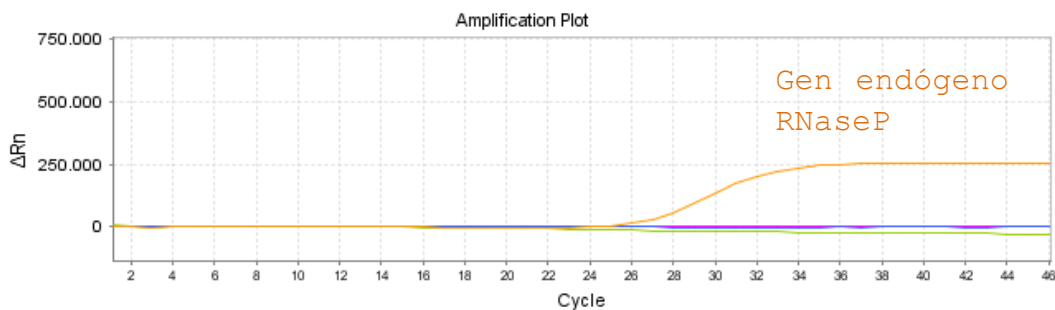


Figura 4 Resultado obtenido a partir de una muestra SARS-CoV-2 negativa. La amplificación del gen endógeno humano RNaseP (TexasRed) se muestra en naranja.

10 Troubleshooting

La siguiente tabla representa los resultados que podrían obtenerse usando los controles positivos, negativos y las muestras de ARN viral. En caso de que se obtenga un resultado inesperado, la interpretación del resultado y la razón más probable de tal resultado se recogen en la siguiente tabla:

Control	RNaseP	Dianas víricas	Resultado / Interpretación
Control Positivo	+	+	Resultado esperado
	-	-	Fallo en la configuración de la PCR ¹
Muestra paciente	+	+	Resultado esperado
	+	-	
	-	-	Fallo de amplificación de las muestras de ARN ²
Control Negativo (NTC)	-	-	Resultado esperado
	+	+	Contaminación con muestras positivas o con el control positivo ³

Tabla 8. Interpretación de posibles resultados obtenidos utilizando Imegen® Neumo ViralDx Kit.

- ¹ Fallo en la configuración de la PCR: Un error en la amplificación puede deberse a un problema técnico durante la configuración de la PCR.
Recomendación: verifique el programa de amplificación y la configuración de la detección de fluorescencia son correctos.
- ² Fallo de amplificación de la muestra del paciente: Un fallo de amplificación del control endógeno humano en la muestra de ARN podría sugerir que la cantidad o la calidad de la muestra de ARN está comprometida.
Recomendación: realice una segunda extracción y análisis, antes de proceder a la interpretación de los resultados.
- ³ Contaminación con muestras positivas o con el control positivo: La contaminación de la PCR podría ser causada por un manejo inadecuado de la muestra, el uso de reactivos contaminados o por una contaminación ambiental, tanto con muestras positivas, como por el control positivo.

Recomendación: limpieza completa del laboratorio donde se preparan las PCR, incluido el equipo y el material utilizado. Si es necesario, use alícuotas nuevas de los reactivos de PCR y prepare finalmente las reacciones de PCR que contienen los controles positivos para evitar cualquier contaminación cruzada.

11 Limitaciones

11.1 Equipos

Imegen® Neumo ViralDx Kit ha sido validado usando los siguientes termocicladores de PCR:

- 7500 FAST Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific)
- QuantStudio 5 Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific)
- CFX96 Touch Real-Time PCR System (BioRad)

Si usa otra marca o modelo de termocicladores, puede ser necesario ajustar el programa de amplificación. Por favor, contacte con nuestro servicio técnico para cualquier consulta o aclaración.

11.2 Reactivos

El fabricante no se hace responsable del mal funcionamiento del ensayo si los reactivos incluidos en el kit son sustituidos por otros reactivos no suministrados por Imegen.

11.3 Estabilidad del producto

El Kit Imegen® Neumo ViralDx Kit es estable durante su vida útil, siempre que se aseguren las condiciones de almacenamiento especificadas en estas instrucciones.