

INFORME DE VERIFICACIÓN DEL MÉTODO MOLECUTECH REAL TIME COVID 19 PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DEL NUEVO CORONAVIRUS SARS-COV2 EMPLEANDO EL TERMOCICLADOR CFX96

INTRODUCCIÓN Y PRINCIPIO DEL TEST

La prueba MolecuTech® Real-Time COVID-19 es una prueba de RT-PCR en tiempo real prevista para la detección cualitativa de ácido nucleico del SARS-CoV-2 en esputo, líquido de lavado broncoalveolar, muestras de hisopados orofaríngeos y nasofaríngeos de individuos con signos y síntomas de infección sospechosos de COVID-19. Las pruebas se limitan a laboratorios, certificados bajo las Enmiendas de Mejoramiento de Laboratorios Clínicos de 1988 (CLIA), 42 U.S.C. §263a, para realizar pruebas de alta complejidad.

Los resultados son para la identificación del ARN del SARS-CoV-2 que generalmente es detectable en esputo humano, líquido de lavado broncoalveolar e hisopados orofaríngeos y nasofaríngeos durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos son indicativos de infección activa. Los laboratorios de todos los países deben informar todos los resultados positivos a las autoridades de salud pública correspondientes.

Los resultados negativos no excluyen la infección 2019-nCoV y no deben usarse como la única base para las decisiones de manejo del paciente. Los resultados negativos deben combinarse con observaciones clínicas, antecedentes del paciente e información epidemiológica.

MolecuTech® Real-Time COVID-19 está prevista para ser utilizada por personal de laboratorio clínico capacitado específicamente instruido y capacitado en las técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos de diagnóstico in vitro.

El Kit de Extracción de Ácido nucleico TANBead® (REF M665A46) es adecuado para aislar ácido nucleico de varios virus. La extracción automatizada de ácido nucleico puede realizarse mediante el Extractor de Ácido Nucleico TANBead® (Serie Maelstrom). Los ácidos nucleicos purificados se pueden analizar mediante aplicaciones posteriores que incluyen PCR en tiempo real y secuenciación de próxima generación.

El Kit de Extracción de Ácido Nucleico TANBead® (REF M665A46) es adecuado para extraer ácidos nucleicos de varios virus, tales como como el virus de la hepatitis C, el virus de la hepatitis B y el virus de la influenza. Las muestras de suero se procesan a través de una serie de pasos de extracción automática y, finalmente, los ácidos nucleicos de alta calidad se pueden aplicar directamente a los siguientes ensayos cualitativos y cuantitativos. Con alta sensibilidad, este kit de reactivos se puede aplicar para diagnósticos clínicos e investigación

La capa de dióxido de silicio recubierta en las microesferas magnéticas puede adsorber las moléculas cargadas negativamente para purificar los ácidos nucleicos de las muestras.

STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit está pensado para que se use en el aislamiento de ácido nucleico a partir de muestras de tejido, células, bacterias, suero, plasma, hisopados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, lavado broncoalveolar (BAL), orina, heces, esputo, sangre total, exudado genital (vaginal, cervical, uretral) o citología en medio líquido (LBC) o fluido cerebroespinal (CSF) por medio de un instrumento para el manejo automatizado de líquidos como es el MICROLAB NIMBUS IVD o el MICROLAB STARlet IVD.

ESPECIFICACIONES DE MANUFACTURA

CARACTERÍSTICAS DEL METODO MolecuTech® Real-Time COVID-19				
PRUEBA	MolecuTech® Real-Time COVID-19			
METODO	PCR tiempo real			
CASA MATRIZ	YD			
CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA				
TIPO DE MUESTRA	Respiratorias	X		OTROS FLUIDOS
CONSERVACION Y ESTABILIDAD	Se deben conservar 2-8°C por un máximo de 48 horas, si excede este tiempo conservese en congelación preferiblemente a -70°C			
SOLUCION DE DILUCION	No se requiere	DILUCION RECOMENDADA	No se requiere	
PREPARACION (Si aplica)	5ul ARN.			
CONSERVACION Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS DE DIAGNOSTICO IN VITRO (RDI)				
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO	-20°C			
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	Preservar todos los componentes del kit en el estuche a -20°C			
ESTABILIDAD	Hasta fecha de caducidad.			
CARACTERISTICAS DEL METODO				
RANGO DE MEDIDA	No Aplica			
SENSIBILIDAD ANALITICA	2 copias/uL para RdRP y 20 copias /uL para el gen E para SARS-CoV-2.			
INTERFERENCIAS	Se evaluó frente a 73 agentes asociados a infección respiratoria mostró unos resultados claros de que no hay ninguna influencia en los resultados.			
CALIBRACION	ESTABILIDAD	4°C	NUMERO DE CALIBRADORES	No requiere

CARACTERÍSTICAS DEL METODO Kit de Extracción de Ácido nucleico TANBead® (REF M665A46)				
PRUEBA	Kit de Extracción de Ácido nucleico TANBead® (REF M665A46)			
METODO	Extracción de Ácidos nucleicos por perlas magnéticas			
CASA MATRIZ	TANBead			
CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA				
TIPO DE MUESTRA	Respiratorias		OTROS FLUIDOS	X
CONSERVACION Y ESTABILIDAD	Se deben conservar 2-8°C por un máximo de 48 horas, si excede este tiempo conservese en congelación preferiblemente a -70°C			
SOLUCION DE DILUCION	No se requiere	DILUCION RECOMENDADA	No se requiere	
PREPARACION (Si aplica)	300ul muestra original.			
CONSERVACION Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS DE DIAGNOSTICO IN VITRO (RDI)				
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO	Temperatura ambiente, excepto la PK debe mantenerse en refrigeración			
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	Temperatura ambiente			
ESTABILIDAD	Hasta fecha de caducidad.			
CARACTERISTICAS DEL METODO				
RANGO DE MEDIDA	No Aplica			
CALIBRACION	ESTABILIDAD	No refiere	NUMERO DE CALIBRADORES	No requiere

CARACTERÍSTICAS DEL METODO STARMag 96x 4Universal Cartridge Kit				
PRUEBA	StarMag 96x4 Universal CartridgeAllplex 2019 nCoV			
METODO	Extracción de Ácidos nucleicos por perlas magnéticas			
CASA MATRIZ	SEEGENE			
CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA				
TIPO DE MUESTRA	Respiratorias		OTROS FLUIDOS	X
CONSERVACION Y ESTABILIDAD	Se deben conservar 2-8°C por un máximo de 48 horas, si excede este tiempo conservese en congelación preferiblemente a -70°C			
SOLUCION DE DILUCION	No se requiere	DILUCION RECOMENDADA	No se requiere	

PREPARACION (Si aplica)	300ul muestra original.			
CONSERVACION Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS DE DIAGNOSTICO IN VITRO (RDI)				
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO	Temperatura ambiente, excepto la PK una vez reconstituida debe mantenerse a -20°C			
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	Temperatura ambiente			
ESTABILIDAD	Hasta fecha de caducidad.			
CARACTERISTICAS DEL METODO				
RANGO DE MEDIDA	No Aplica			
COEFICIENTE DE VARIACION	REPETIBILIDAD %CV (Intraserie)	100%		
	REPRODUCIBILIDAD %CV (Interserie)	100%		
CALIBRACION	ESTABILIDAD	No refiere	NUMERO DE CALIBRADORES	No requiere

Interpretación de resultados

No.	RdRP (FAM)	Gen E (CY5)	RPP30 (ROX)	Interpretación de Datos	Validez
Muestra 1	Ct ≤ 40.0 (+)	Ct ≤ 40.0 (+)	Ct ≤ 40.0 (+)	SARS-CoV-2 positivo	válido
Muestra 2	Ct ≤ 40.0 (+)	Ct ≤ 40.0 (+)	Ct > 40.0 (-)	SARS-CoV-2 positivo	válido
Muestra 3	Ct ≤ 40.0 (+)	Ct > 40.0 (-)	Ct ≤ 40.0 (+)	SARS-CoV-2 positivo	válido
Muestra 4	Ct ≤ 40.0 (+)	Ct > 40.0 (-)	Ct > 40.0 (-)	SARS-CoV-2 Positivo	válido
Muestra 5	Ct > 40.0 (-)	Ct ≤ 40.0 (+)	Ct ≤ 40.0 (+)	SARS-CoV-2 Presunto* positivo	válido
Muestra 6	Ct > 40.0 (-)	Ct ≤ 40.0 (+)	Ct > 40.0 (-)	SARS-CoV-2 Presunto* positivo	válido
Muestra 7	Ct > 40.0 (-)	Ct > 40.0 (-)	Ct ≤ 40.0 (+)	Negativo	válido
Muestra 8	Ct > 40.0 (-)	Ct > 40.0 (-)	Ct > 40.0 (-)	Volver a probar **	inválido

* Repita la prueba una vez más. Si el resultado repetido sigue siendo Presunto Positivo, pueden ser necesarias pruebas de confirmación adicionales.

** Repita la prueba una vez más. Si el resultado repetido sigue siendo inválido, considere recolectar una nueva muestra.

OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar la verificación del método del Kit MolecuTech® Real-Time COVID-19 para la amplificación del nuevo coronavirus Sars-CoV2 , con el fin de garantizar un adecuado desempeño.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar que el desempeño del método amplificación, cumple con los requisitos de seguridad y calidad establecidos por los estándares definidos.
- Verificar que no existen errores clínicamente significativos en términos de exactitud que afecten los límites de decisión clínicos.
- Determinar el grado de concordancia que hay entre la metodología de referencia y la metodología a verificar.

2. ALCANCE

Este estudio aplica para la amplificación con el ensayo MolecuTech® Real-Time COVID-19 realizado por la metodología **de PCR en tiempo real**, empleando el Dispositivo Medico termociclador CFX96.

3. DOCUMENTOS RELACIONADOS

Inserto:

MolecuTech® Real-Time COVID-19

El Kit de Extracción de Ácido Nucleico TANBead® (REF M665A46)

Starmag Universal 96 x4

VIRCELL RNA CONTROL (Amplirun)

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Tipo de Muestra:

En el estudio se emplearon 59 eluidos de muestras respiratorias previamente valoradas. Considerando que solo se consideraran los resultados de las muestras que cumplan con los requisitos mínimos para la comparación por corresponder a muestras RNA.

4.1.2 Reactivos y Controles

MolecuTech® Real-Time COVID-19

El Kit de Extracción de Ácido Nucleico TANBead® (REF M665A46)

Starmag Universal 96 x4

VIRCELL RNA CONTROL (Amplirun)

5. PROCEDIMIENTO

Para realizar la validación del método de amplificación Molecutech Real time COVID 19, se efectuaron las siguientes estimaciones:

5.1. Comparación de métodos

Se emplearon un total de 60 eluidos de muestras respiratorias previamente valoradas frente a los resultados obtenidos previamente, descritas a continuación:

- A. Comparando diferentes métodos de extracción para el kit Molecutech (42 eluidos)
- B. Comparando los resultados de muestras previamente valoradas con diferentes lotes (18 eluidos)

se analizarán los datos empleando el índice Kappa

Se realizó la comparación de resultados para determinar la concordancia obtenida frente a los resultados reportados de la metodología anterior, con el fin de evidenciar la concordancia obtenida en el proceso de medición.

Se realizó una evaluación del control Amplirun, empleando diferentes diluciones del mismo por duplicado, empleando el kit MolecuTech Real-Time COVID-19®, empleando el CFX96

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS:

6.1 Concordancia

Los resultados obtenidos por las diferentes metodologías se compararon mediante herramientas estadísticas de concordancia para evaluar si los resultados emitidos por el método a validar son consistentes con los resultados del método o instrumento de referencia.

***Comparación de resultados:**

Resultados con diferentes métodos de extracción:

Well	Fluoroforo	Target	ID Muestra	Cq Mean	Método	Resultado Previo por Allplex 2019 nCoV	Resultado YD
A01	Cy5	E	72302384-344	0.00	Starlet	Negativo	Invalida
A01	FAM	RdRP	72302384-344	0.00	Starlet		
A01	ROX	IC	72302384-344	0.00	Starlet		
B01	Cy5	E	72302448-344	0.00	Starlet	Negativo	Negativo
B01	FAM	RdRP	72302448-344	0.00	Starlet		
B01	ROX	IC	72302448-344	35.44	Starlet		
C01	Cy5	E	72302450-344	0.00	Starlet	Negativo	Negativo
C01	FAM	RdRP	72302450-344	0.00	Starlet		
C01	ROX	IC	72302450-344	34.93	Starlet		
D01	Cy5	E	72302471-344	0.00	Starlet	Negativo	Negativo
D01	FAM	RdRP	72302471-344	0.00	Starlet		
D01	ROX	IC	72302471-344	36.44	Starlet		
E01	Cy5	E	72302473-344	0.00	Starlet	Negativo	Invalida
E01	FAM	RdRP	72302473-344	0.00	Starlet		
E01	ROX	IC	72302473-344	0.00	Starlet		
F01	Cy5	E	72302475-344	0.00	Starlet	Negativo	Negativo
F01	FAM	RdRP	72302475-344	0.00	Starlet		
F01	ROX	IC	72302475-344	34.73	Starlet		
G01	Cy5	E	72302489-344	0.00	Starlet	Negativo	Negativo
G01	FAM	RdRP	72302489-344	0.00	Starlet		
G01	ROX	IC	72302489-344	35.91	Starlet		
H01	Cy5	E	72302502-344	0.00	Starlet	Negativo	Negativo
H01	FAM	RdRP	72302502-344	0.00	Starlet		
H01	ROX	IC	72302502-344	35.63	Starlet		
A02	Cy5	E	72302555-344	0.00	Starlet	Negativo	Invalida

A02	FAM	RdRP	72302555-344	0.00	Starlet		
A02	ROX	IC	72302555-344	0.00	Starlet		
B02	Cy5	E	72302615-344	0.00	Starlet	Negativo	Invalida
B02	FAM	RdRP	72302615-344	0.00	Starlet		
B02	ROX	IC	72302615-344	0.00	Starlet		
H04	Cy5	E	72301330-344	19.67	Starlet	Positiva	Positiva
H04	FAM	RdRP	72301330-344	18.87	Starlet		
H04	ROX	IC	72301330-344	0.00	Starlet		
A05	Cy5	E	72301536-344	22.00	Starlet	Positiva	Positiva
A05	FAM	RdRP	72301536-344	20.90	Starlet		
A05	ROX	IC	72301536-344	0.00	Starlet		
B05	Cy5	E	72301617-344	32.27	Starlet	Positiva	Positiva
B05	FAM	RdRP	72301617-344	31.13	Starlet		
B05	ROX	IC	72301617-344	0.00	Starlet		
C05	Cy5	E	72301728-344	24.83	Starlet	Positiva	Positiva
C05	FAM	RdRP	72301728-344	24.11	Starlet		
C05	ROX	IC	72301728-344	0.00	Starlet		
D05	Cy5	E	72301787-344	31.44	Starlet	Positiva	Positiva
D05	FAM	RdRP	72301787-344	30.67	Starlet		
D05	ROX	IC	72301787-344	35.21	Starlet		
E05	Cy5	E	72301789-344	27.77	Starlet	Positiva	Positiva
E05	FAM	RdRP	72301789-344	27.17	Starlet		
E05	ROX	IC	72301789-344	35.47	Starlet		
F05	Cy5	E	72301927-344	26.55	Starlet	Positiva	Positiva
F05	FAM	RdRP	72301927-344	25.95	Starlet		
F05	ROX	IC	72301927-344	0.00	Starlet		
G05	Cy5	E	72301952-344	17.24	Starlet	Positiva	Positiva
G05	FAM	RdRP	72301952-344	16.80	Starlet		
G05	ROX	IC	72301952-344	0.00	Starlet		
H05	Cy5	E	72302100-344	30.56	Starlet	Positiva	Positiva
H05	FAM	RdRP	72302100-344	29.62	Starlet		
H05	ROX	IC	72302100-344	0.00	Starlet		
A06	Cy5	E	72302138-344	26.83	Starlet	Positiva	Positiva
A06	FAM	RdRP	72302138-344	26.51	Starlet		
A06	ROX	IC	72302138-344	0.00	Starlet		
C02	Cy5	E	72302503-344	0.00	Tanbead	Negativo	Negativo
C02	FAM	RdRP	72302503-344	0.00	Tanbead		

C02	ROX	IC	72302503-344	34.13	Tanbead		
D02	Cy5	E	72303643-344	0.00	Tanbead	Negativo	Negativo
D02	FAM	RdRP	72303643-344	0.00	Tanbead		
D02	ROX	IC	72303643-344	34.57	Tanbead		
E02	Cy5	E	72307822-344	0.00	Tanbead	Negativo	Negativo
E02	FAM	RdRP	72307822-344	0.00	Tanbead		
E02	ROX	IC	72307822-344	26.23	Tanbead		
F02	Cy5	E	72403473-344	0.00	Tanbead	Negativo	Negativo
F02	FAM	RdRP	72403473-344	0.00	Tanbead		
F02	ROX	IC	72403473-344	33.18	Tanbead		
G02	Cy5	E	72405890-344	0.00	Tanbead	Negativo	Invalida
G02	FAM	RdRP	72405890-344	0.00	Tanbead		
G02	ROX	IC	72405890-344	40.10	Tanbead		
H02	Cy5	E	72502662-344	0.00	Tanbead	Negativo	Negativo
H02	FAM	RdRP	72502662-344	0.00	Tanbead		
H02	ROX	IC	72502662-344	34.54	Tanbead		
A03	Cy5	E	72502810-344	0.00	Tanbead	Negativo	Negativo
A03	FAM	RdRP	72502810-344	0.00	Tanbead		
A03	ROX	IC	72502810-344	32.07	Tanbead		
B03	Cy5	E	72503101-344	0.00	Tanbead	Negativo	Negativo
B03	FAM	RdRP	72503101-344	0.00	Tanbead		
B03	ROX	IC	72503101-344	35.44	Tanbead		
C03	Cy5	E	72503787-344	0.00	Tanbead	Negativo	Negativo
C03	FAM	RdRP	72503787-344	0.00	Tanbead		
C03	ROX	IC	72503787-344	34.73	Tanbead		
B06	Cy5	E	72302228-344	22.77	Tanbead	Positiva	Positiva
B06	FAM	RdRP	72302228-344	22.14	Tanbead		
B06	ROX	IC	72302228-344	0.00	Tanbead		
C06	Cy5	E	72303423-344	24.22	Tanbead	Positiva	Positiva
C06	FAM	RdRP	72303423-344	23.47	Tanbead		
C06	ROX	IC	72303423-344	0.00	Tanbead		
D06	Cy5	E	72402662-344	31.59	Tanbead	Positiva	Positiva
D06	FAM	RdRP	72402662-344	30.74	Tanbead		
D06	ROX	IC	72402662-344	31.08	Tanbead		
E06	Cy5	E	72502728-344	31.38	Tanbead	Positiva	Positiva
E06	FAM	RdRP	72502728-344	30.46	Tanbead		
E06	ROX	IC	72502728-344	37.76	Tanbead		
F06	Cy5	E	72502957-344	33.38	Tanbead	Positiva	Positiva
F06	FAM	RdRP	72502957-344	32.01	Tanbead		
F06	ROX	IC	72502957-344	32.28	Tanbead		

G06	Cy5	E	72504357-344	36.07	Tanbead	Positiva	Positiva
G06	FAM	RdRP	72504357-344	33.54	Tanbead		
G06	ROX	IC	72504357-344	31.01	Tanbead		
H06	Cy5	E	72504601-344	27.43	Tanbead	Positiva	Positiva
H06	FAM	RdRP	72504601-344	26.51	Tanbead		
H06	ROX	IC	72504601-344	38.67	Tanbead		
A07	Cy5	E	72504608-344	34.56	Tanbead	Positiva	Positiva
A07	FAM	RdRP	72504608-344	33.18	Tanbead		
A07	ROX	IC	72504608-344	31.57	Tanbead		

		REFERENCE METHOD		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
Molecutech	POSITIVE	18	0	18
	NEGATIVE	0	19	19
	TOTAL	18	19	37

KAPPA INDEX		
<i>Relative observed agreement</i>	<i>Po</i>	<i>1.00</i>
<i>Hypothetical probability of chance agreement</i>	<i>Pe</i>	<i>0.50</i>
<i>Cohen's kappa coefficient</i>	<i>K</i>	<i>1.00</i>
<i>Concordance Grade</i>	<i><u>Very Good</u></i>	

Se observa que con los dos métodos de extracción molecutech presenta un índice Kappa de 1, evidenciando un grado de concordancia muy bueno, de las 42 muestras evaluadas 5 presentaron un resultado invalido las cuales corresponden a muestras donde no se detecto el gen RPP30, lo cual puede deberse a una degradación del ARN, ya que se tomaron eluidos previamente procesados por la metodología de referencia

Comparación de resultados de muestras previamente valoradas con diferentes lotes de YD

LOTE 9								
ID Sample	FAM		ROX		CY5		Resultado	Resultado referencia
80501192	-	N/A	+	34.15	-	N/A	Negative	Negative
80501195	-	N/A	+	27.69	-	N/A	Negative	Negative
80501207	-	N/A	+	30.11	-	N/A	Negative	Negative
80501260	-	N/A	-	N/A	-	N/A	Invalid	Negative
80301048	+	26.15	+	23.44	+	28.52	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
80501044	+	27.16	+	25.04	+	26.43	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
80501059	+	28.47	+	24.81	+	28.11	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
80501113	+	28.86	+	25.08	+	32.11	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
80501439	+	19.25	-	N/A	+	18.21	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
LOTE 6								
ID Sample	FAM		ROX		CY5		Resultado	Resultado referencia
80501192	-	42.16	+	28.79	-	N/A	Negative	Negative
80501195	-	N/A	+	27.07	-	N/A	Negative	Negative
80501207	-	44.13	+	29.33	-	N/A	Negative	Negative
80501260	-	42.44	+	32.9	-	N/A	Negative	Negative
80301048	+	21.01	-	N/A	+	21.95	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
80501044	+	23.05	+	28.53	+	21.08	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
80501059	+	22.67	+	35.48	+	23.02	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
80501113	+	22.68	-	N/A	+	25.12	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2
80501439	+	17.36	-	N/A	+	18.56	Positive for SARS-CoV-2	Positive for SARS-CoV-2

		REFERENCE METHOD		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
Molecutech lot N° 9	POSITIVE	5	0	5
	NEGATIVE	0	3	3
	TOTAL	5	3	8

KAPPA INDEX		
<i>Relative observed agreement</i>	Po	1.00
<i>Hypothetical probability of chance agreement</i>	Pe	0.53
<i>Cohen's kappa coefficient</i>	K	1.00
Concordance Grade	<u>Very Good</u>	

Overall Agreement Lot 9	
# Sample tested	9
# Sample agreement	8
# Sample discordant	1
% Overall Agreement	89%
Acceptability judgement	80-100%
Performance	Accomplish

		REFERENCE METHOD		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
Molecutech lot N° 6	POSITIVE	5	0	6
	NEGATIVE	0	4	4
	TOTAL	5	5	9

KAPPA INDEX		
Relative observed agreement	Po	1.00
Hypothetical probability of chance agreement	Pe	0.51
Cohen's kappa coefficient	K	1.00
Concordance Grade	Very Good	

Overall Agreement Lot 6	
# Sample tested	9
# Sample agreement	9
# Sample discordant	0
% Overall Agreement	100%
Acceptability judgement	80-100%
Performance	Accomplish

Los resultados muestran un índice Kappa de 1, en el caso de la muestra invalida que se evidencio puede ser por falta de pipeteo al homogenizar la master con el eluido y porque se adicioneo un cantidad inferior a los 5ul, por ser la última alícuota que quedaba del eluido para esta muestra

Resultados del control positivo de Amplirun

Estuche	Fluoróforo	gen	Vircell 1:1		Vircell 1:10			Vircell 1:100				
				ct		ct		ct		ct		ct
Molecutech	Cy5	E	+	24,64	+	28.5	+	28.55	+	34.23	+	33.93
	FAM	RdRp	+	24.74	+	28.06	+	27,89	+	32.76	+	33.13
	ROX	CI	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0

Valor en copias del control 12500 copias aproximadamente

1:10 1250 copias aproximadamente

1:100 125 copias aproximadamente

- Se observa una adecuada detección del kit Molecutech de los dos targets gen E y Gen RdRP en el control evaluado. Para el estuche Molecutech el control interno endógeno (RPP30) no es detectado por que el ARN del control amplirun pertenece a un virus cultivado en Células vero E6 que no son de origen humano.

Conclusiones

- En el presente estudio se evidenció que no existen errores estadísticamente significativos en términos de precisión y exactitud en los resultados emitidos para el mensurando Molecutech Real time COVID19 frente a los resultados emitidos por la metodología tomada como referencia.
- La metodología MolecuTech® Real-Time COVID-19, usando el dispositivo médico CFX96 de BioRad mostró resultados que son concordantes frente al metodo de referencia, cumpliendo con el criterio de aceptabilidad establecido como meta indicando una alta correlación y asociación entre los resultados
- Por medio de esta verificación se infiere que el nuevo método MolecuTech® Real-Time COVID-19 para la detección del nuevo coronavirus COVID 19, cumple con las especificaciones de desempeño establecidas para el reporte de resultados, sin que se afecte la decisión clínica de los pacientes
- El control es detectable hasta la dilución realizada 1:100, mostrando un incremento de los CT directamente proporcional a cada dilución

Elaborado por: Tatiana Gómez
Especialista de Biología Molecular
Annar Health Technologies