

K4B03TS - B33098v4

☆ KEY-CODE: FRI70764

Uso en diagnóstico *in vitro*

☆ Nov. 2020 (ver. 2)

☆ : Observar cambios

ESPLINE™ SARS-CoV-2



Fujirebio Inc.
2-1-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 163-0410 Japan
TEL: +81-3-6279-0899



Fujirebio Europe N.V.
Technologiepark 6, 9052 Gent, Belgium
TEL: +32-9 329 13 29

Distribuido por:

☆ **Mast Diagnostica GmbH**
TEL: +49 4533 2007 0
FAX: +49 4533 2007 68
mast@mast-diagnostica.de

Fujirebio France SARL
TEL: +33-1 69 07 48 34
FAX: +33-1 69 07 45 00
france@fujirebio-europe.com

Fujirebio Italia S.r.l.
TEL: +39-06 965 28 700
FAX: +39-06 965 28 765
italy@fujirebio-europe.com

Fujirebio Iberia S.L.
TEL: +34-93 270 53 00
FAX: +34-93 270 53 02
spain@fujirebio-europe.com

Fujirebio Europe N.V.
TEL: +32-9 329 13 29
FAX: +32-9 329 19 11
customer.support@fujirebio-europe.com

Lea atentamente este manual antes de realizar el ensayo y asegúrese de que sea la versión más reciente del manual de producto. No se puede garantizar la fiabilidad de procedimientos de ensayo diferentes a los descritos en este manual.

■ NOMBRE

ESPLINE SARS-CoV-2

■ USO PREVISTO

ESPLINE SARS-CoV-2 se utiliza para el diagnóstico *in vitro* con ensayo inmunocromatográfico para la detección del antígeno de SARS-CoV-2 en fluido de hisopo nasofaríngeo. Su uso previsto es contribuir al diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2. Este producto es exclusivamente para uso profesional.

■ RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

Esta nueva enfermedad infecciosa causada por coronavirus en 2019 (COVID-19) es producida por el nuevo coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2).^{1,2)}

En diciembre de 2019, las autoridades sanitarias de Wuhan, provincia de Hubei (China) comunicaron múltiples casos de pacientes con neumonía con causas desconocidas. El 7 de enero de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) anunció que la Comisión Nacional de Sanidad de China había identificado un nuevo tipo de coronavirus, el SARS-CoV-2.³⁾ Debido a la propagación mundial de la infección por el nuevo coronavirus, la OMS declaró una pandemia por COVID-19 el 11 de marzo de 2020.⁴⁾

La detección del virus en el cuerpo del paciente es la manera más efectiva de confirmar la infección por SARS-CoV-2. En la mayor parte de los países, incluido Japón, el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 se basa en la detección molecular de genes de SARS-CoV-2. Aunque los ensayos basados en ácido nucleico pueden detectar el gen SARS-CoV-2 con alta sensibilidad, se ven afectados por la necesidad de un equipo especial y por el tiempo de reacción. ESPLINE SARS-CoV-2 es un ensayo de tipo cassette que utiliza un sencillo procedimiento sin ningún instrumento especial. El SARS-CoV-2 se puede detectar en 30 minutos.

■ PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

ESPLINE SARS-CoV-2 es un ensayo inmunocromatográfico que utiliza anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2. Cuando se añade la muestra al cassette (ventana de muestra), los antígenos de SARS-CoV-2 presentes en la muestra se unen a los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 conjugados con fosfatasa alcalina (ALP) y migran a la zona de la ventana de interpretación. Los complejos antígeno-anticuerpo son capturados por los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 inmovilizados en la banda de ensayo SARS-CoV-2. La enzima ALP reacciona con el sustrato y forma una banda de ensayo azul SARS-CoV-2 (T) en la ventana de interpretación. El exceso de anticuerpos marcados con ALP continúa migrando en la membrana y se muestra una línea de referencia (r) azul.

■ MATERIALES SUMINISTRADOS

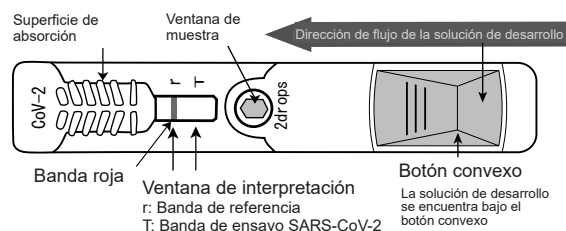


Fig.1 Cassette de reacción

ESPLINE SARS-CoV-2

REF 231906

Paquete Especificación	Kits Componentes	Reactivos		REF
		CoV-2	I	
100 ensayos		10 × 10 ensayos/caja	200 µL/tubo 20×5 tubos/bolsa	10 × 10 puntas/bolsa

CoV-2 Cassette de reacción SARS-CoV-2:

Anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2 (murino)
Anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2 (murino) marcados con fosfatasa alcalina (ALP)
sal disodio de 5-bromo-4-cloro-3-fosfato de indoly
Azida de sodio 0.05% (w/v)

I Solución de extracción de muestra (tubo flexible):

Surfactante y albúmina sérica bovina,
Azida de sodio 0.095% (w/v)

TIP Punta de aplicador

■ MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Con ESPLINE SARS-CoV-2 se recomienda utilizar los hisopos siguientes.

- Hisopos esterilizados (marcado CE)
Fluido de hisopo nasofaríngeo:
 - Dry Swabs 170KS01 Regular Rayon Swab w/ Aluminium Applicator (Número de catálogo 170KS01. Copan Italia S.p.A, Italy)
 - Puritan 5.5" Sterile Mini-tip Rayon Swab w/ Aluminum Handle (Número de catálogo 25-800 R 50. Puritan Medical Products, US)
 - Peel Pouch Dry swab ENT (Número de catálogo MW151. Medical Wire & Equipment, UK)

■ ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Solo para uso en diagnóstico *in vitro*

1. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

Consulte la ficha de datos de seguridad (FDS) y el etiquetado del producto para obtener información acerca de componentes potencialmente peligrosos. La versión más reciente de la FDS se encuentra disponible en la página web www.fujirebio-europe.com.

H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

2. PRECAUCIONES PARA LA MANIPULACIÓN

- 1) Todas las muestras deben manipularse como productos infecciosos. Deben utilizarse guantes desechables, mascarilla, gafas y ropa de protección adecuados.
- 2) En el caso de sospecha de infección por un nuevo SARS-CoV según los criterios de selección epidemiológica y los criterios clínicos actuales recomendados por las autoridades sanitarias locales, las muestras deberán recogerse con las precauciones de control de infecciones adecuadas para el nuevo SARS-CoV y enviarse las autoridades sanitarias locales para su ensayo.
- 3) No utilice ningún cassette de reacción en el que no aparezca la banda roja junto a la letra "r" o en el que dicha banda no esté clara (o sea poco visible). Consulte la Fig.1.
- 4) La solución de desarrollo en el cassette de reacción y la solución de extracción de muestra contienen azida de sodio como conservante (0.05%, 0.095%). Evite el contacto directo con la piel o los ojos. En el caso de contacto accidental de algún reactivo con ojos o boca, lavar inmediatamente con abundante agua y acudir al médico si es necesario.

- No beba, coma ni fume en zonas en las que se estén manipulando o ensayando muestras.
- No toque ni dañe la ventana de muestra ni la ventana de interpretación del cassette de reacción. La funda de aluminio contiene un cassette de reacción, que tiene un botón convexo, una ventana de interpretación y una ventana de muestra. Manipule la funda con cuidado. No presione la funda con el cassette en su interior. No coloque nada encima de la funda.
- Mantenga el cassette de reacción alejado de cualquier fuente de ignición.
- Retire la solución de extracción de muestra (tubo flexible) de la bolsa de plástico justo antes de empezar el ensayo. En el caso de tubos flexibles no utilizados, asegúrese de cerrar la bolsa de plástico y de guardarlos según las condiciones especificadas (temperatura de almacenamiento: 1-30 °C).

3. PRECAUCIONES DE USO

- Siga las instrucciones que se indican en este prospecto.
- No utilice este kit después de la fecha de caducidad.
- No reutilice ninguno de los componentes del kit.
- En el caso de que se recojan muestras con un hisopo distinto de los recomendados, es posible que no se produzcan resultados válidos. No utilice el hisopo si está visiblemente dañado.

4. PRECAUCIONES PARA RESIDUOS

- Los reactivos contienen azida de sodio como conservante, como se ha descrito anteriormente. Se ha reportado que la azida de sodio forma azidas explosivas de cobre y plomo en las tuberías del laboratorio. En el caso de que la solución que contiene azida se deseché por las tuberías, deje correr abundante agua para evitar que se produzcan acumulaciones de azida. Siga la regulación vigente para su eliminación.
- Manipule cualquier residuo médico siguiendo la regulación aplicable en materia de residuos.

■ INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar a 1-30 °C.

NO CONGELAR

Evitar la exposición directa a la luz solar.

Cuando los reactivos son almacenados y utilizados adecuadamente, permanecen estables hasta la fecha de caducidad. Consulte la fecha de caducidad en la etiqueta del envase.

■ RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Si la recolección de muestras se lleva a cabo de forma incorrecta o inadecuada, es probable que el resultado obtenido sea un falso negativo. Lleve a cabo la recogida de fluido de hisopo nasofaríngeo de forma adecuada y correcta. Consulte la bibliografía médica correspondiente.

1. Recolección de muestras

Muestra de fluido de hisopo nasofaríngeo

Introduzca un hisopo esterilizado en el fondo de la cavidad nasofaríngea desde fosas nasales hasta las adenoides, rote el hisopo varias veces y frote los cornetes nasofaríngeos para recoger epidermis de la mucosa. Las muestras deben prepararse inmediatamente después de su recogida.

2. Preparación de muestras

Atemperé la solución de extracción de muestra a una temperatura en el rango de 20 a 37 °C antes de utilizarla y despegue el sello superior azul. Las muestras deben prepararse inmediatamente después de su recogida.

- Coloque el hisopo en la solución de extracción de muestra (tubo flexible) y apriete el hisopo desde el exterior del tubo hasta la parte interior unas 10 veces. Finalmente, apriete la parte de algodón del hisopo para extraer la muestra.
- Introduzca la punta del aplicador en la parte superior del tubo con la solución de extracción de muestra.
- Deje reposar la muestra durante 5 minutos.

■ PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Antes de realizar el ensayo, atemperé el cassette de reacción a una temperatura en el rango de 20 a 37 °C. No abra la funda de aluminio hasta que no esté todo listo para llevar a cabo el ensayo.

- Retire el cassette de reacción de la funda de aluminio.
Nota: Sostenga la funda de aluminio por los bordes al abrirla. Tenga cuidado de no presionar el botón convexo, ya que ello iniciaría la reacción.
- Mantenga el tubo flexible vertical (aproximadamente 10 mm por encima del cassette de reacción) y aplique dos gotas de la muestra del tubo flexible en la ventana de ensayo del cassette de reacción.
- Presione el botón convexo del cassette de reacción inmediatamente después de aplicar la muestra para iniciar la reacción.

- Deje el cassette en posición horizontal durante 30 minutos.
- Interprete el resultado transcurridos 30 minutos. (Consulte

■ RESULTADOS

Nota: Si la banda de referencia y la banda de ensayo se muestran antes de 30 minutos, la muestra se considerará “positiva”. Una muestra “negativa” tras el tiempo de reacción de 30 minutos y que a continuación se vuelve “positiva” tras 30 minutos, se considerará “negativa”

■ RESULTADOS

1. Positivo

SARS-CoV-2 positivo: se observa una banda de referencia azul en la posición r y una banda de ensayo azul en la posición T.

2. Negativo

Se observa una banda de referencia azul en la posición r, pero no se muestra ninguna banda de ensayo azul en la posición T.

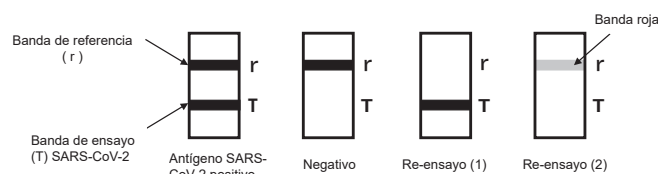
3. No válido

Re-ensayo (1): No hay ninguna banda de referencia azul transcurridos 30 minutos

Re-ensayo (2): Sigue habiendo una banda de referencia roja transcurridos 30 minutos

Revise el procedimiento del ensayo y repítalo con un cassette de reacción nuevo.

Si se vuelve a producir el problema, póngase en contacto con el distribuidor local.



Nota: Un diagnóstico completo debe tener en cuenta información epidemiológica, así como síntomas y signos clínicos.

■ LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Los valores predictivos positivos y negativos dependen en gran medida de la prevalencia. Los resultados de ensayo falsos negativos son más probables que se produzcan durante el pico de actividad cuando la prevalencia de la enfermedad es alta. Los falsos positivos son más probables durante períodos de baja actividad del SARS-CoV-2 en los que la prevalencia es entre baja y moderada.
- Es posible que los anticuerpos monoclonales no detecten (o detecten con menor sensibilidad) SARS-CoV-2 que haya sufrido leves cambios de aminoácidos en la región epítipo diana.
- ESPLINE SARS-CoV-2 ha sido diseñado para la detección cualitativa de antígenos de SARS-CoV-2 en fluido de hisopo nasofaríngeo. Para realizar un diagnóstico adecuado, los resultados obtenidos con ESPLINE SARS-CoV-2 se deben usar en conjunción con signos clínicos, síntomas y resultados de otros ensayos.
- Puede producirse un resultado de ensayo negativo si el nivel de antígeno de una muestra está por debajo de su límite de detección. Los resultados de ensayo se deben evaluar en conjunción con otros datos clínicos e información de prevalencia de la COVID-19 de los que disponga el médico.
- Los resultados negativos no descartan la infección por SARS-CoV-2 y otros virus.
- ESPLINE SARS-CoV-2 utiliza anticuerpos frente a nucleoproteínas del antígeno SARS-CoV-2. Los resultados de ESPLINE SARS-CoV-2 pueden diferir de los obtenidos mediante el aislamiento del virus y el método PCR. El método de aislamiento del virus confirma su presencia cultivándolo en la muestra, mientras que el método PCR la confirma amplificando su ácido nucleico.

■ CARACTERÍSTICAS DEL PROCEDIMIENTO

☆ 1. Datos clínicos

Correlación con RT-PCR utilizando muestras nasofaríngeas de primera visita ⁵⁾

Para evaluar la exactitud del dispositivo, se evaluó la correlación entre ESPLINE SARS-CoV-2 y el método RT-PCR utilizando 162 muestras nasofaríngeas de primera visita. La tasa de concordancia entre ensayos fue del 100.0% (100/100) para muestras negativas y superior al 80.0% (50/62) para muestras positivas con una concordancia total del 92.6% (150/162). Para los índices de exactitud, la sensibilidad fue del 80.6% (IC al 95% 69.1-88.6%), la especificidad fue del 100.0% (IC al 95% 96.3- 100.0%), con valor predictivo positivo (VPP) de 100.0% (50/50, IC al 95% 92.9-100.0%), valor predictivo negativo (VPN) de 89.3% (100/112, IC al 95% 82.2-93.8%), y un porcentaje de concordancia total del 92.6% (150/162, IC al 95% 87.5-95.7%).

Cuando se realizó la comparación basándose en la tasa de positividad según el valor Ct: La tasa de positividad de muestras con valores de Ct de hasta 25 fue del 100% (32/32, IC al 95% 89.3-100.0%), para valores de Ct de hasta 30 fue de 96.0% (48/50, IC al 95% 86.5-98.9%) y para valores de Ct de hasta 40 fue del 80.6% (50/62, IC al 95% 69.1-88.6%).

		RT-PCR Rango del valor Ct		
		<25	<30	≤40
ESPLINE SARS-CoV-2	Positivo	32	48	50
	Negativo	0	2	12
	Total	32	50	62
Sensibilidad		100.0%	96.0%	80.6%

Cuando se realizó la comparación basándose en la tasa de positividad de las copias de ARN: La tasa de positividad de más de 6400 copias de ARN fue del 100.0% (39/39, IC al 95% 91.0-100.0%), para más de 1600 copias de ARN fue del 97.9% (46/47, IC al 95% 88.9-99.6%), para más de 400 copias de ARN fue del 96.0% (48/50, IC al 95% 86.5-98.9%) y para más de 100 copias de ARN fue del 89.1% (49/55, IC al 95% 78.2-94.9%)

Las 100 muestras RT-PCR negativas fueron negativas con ESPLINE SARS-CoV-2.

Debe tenerse en cuenta que, para estas muestras, se utilizó la misma solución de muestra para los dos ensayos (el hisopo que se utilizó para el ESPLINE SARS-CoV-2 había estado sumergido en la solución de transporte de virus).

	Copias de ARN				Total
	>6400	>1600	>400	>100	
Número de muestras positivas (N=62)	39	47	50	55	62
ESPLINE SARS-CoV-2 positivo	39	46	48	49	50
ESPLINE SARS-CoV-2 negativo	0	1	2	6	12
Tasa de concordancia	100.0%	97.9%	96.0%	89.1%	80.6%

2. Reactividad cruzada

Este reactivo no mostró ninguna reactividad cruzada con virus inactivados de la gripe (gripe H1N1, gripe H3N2, gripe B) ni con antígenos recombinantes internos de coronavirus humanos hasta 200 ng/mL (MERS-CoV, HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1). La reactividad de este reactivo se confirmó con el antígeno del coronavirus humano recombinante interno SARS-CoV. Sin embargo, no hemos examinado la reactividad con los antígenos nativos.

3. Sensibilidad

Se ensayaron tres muestras de control internas en 3 réplicas de 3 lotes. Las 3 muestras dieron resultados de SARS-CoV-2 positivos.

4. Exactitud

Se ensayaron cuatro muestras de control internas (1 negativa, 3 positivas) en 3 réplicas de 3 lotes. La muestra de control interno negativa dio un resultado negativo y las 3 muestras de control interno positivas dieron resultados positivos.

5. Reproducibilidad

Se ensayaron cuatro muestras de control internas (1 negativa, 3 positivas) 3 veces de forma repetida. Todas las muestras produjeron siempre el mismo resultado.

6. Límite de detección

25 pg/mL.

7. Materiales utilizados para la calibración

Productos estándar internos.

■ SUSTANCIAS QUE PRODUCEN INTERFERENCIAS

Los datos demostraron que hasta 450 mg/dL de hemoglobina hemolizada y hasta un 2 % de sangre total no interfieren en el rendimiento de ESPLINE SARS-CoV-2.

■ BIBLIOGRAFÍA

1. Wu F, *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579: 265-269, 2020.
2. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*, 5: 536-544, 2020.

3. WHO website "Rolling updates on coronavirus disease(COVID-19)" (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen>) Medical Research and Development
4. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 (<https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>)
- ☆ 5. Omi K, *et al.* SARS-CoV-2 qRT-PCR Ct value distribution in Japan and possible utility of rapid antigen testing kit. (<https://doi.org/10.1101/2020.06.16.20131243>)

■ SÍMBOLOS

	Marca CE (Directiva Europea 98/79/EC sobre dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i>)
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Contenido válido para <n> ensayos
	Consúltense las instrucciones de uso
	Número de catálogo
	Fecha de caducidad
	Número de serie
	No reutilizar
	Manténgase fuera de la luz del sol
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Frágil, manejar con cuidado
	Precaución
	Abrir por aquí
	Contenido del equipo
	SARS-CoV-2 Cassette de reacción
	Solución de extracción de muestra (tubo flexible)
	Punta de aplicador

ESPLINE es una marca comercial de Fujirebio Inc.