



SCoV-2 Detect™ IgM ELISA

Instrucciones de uso

Solo con autorización de uso de emergencia (EUA)

Para uso en diagnóstico *in vitro* (IVD)

Solo con receta

Se deben tomar muestras de individuos entre los 7 y 64 días del inicio de los síntomas. No se testarán muestras antes de los 7 días desde el inicio de los síntomas. En muestras negativas obtenidas antes de los 12 días desde el inicio de los síntomas se debe realizar una prueba confirmatoria de detección directa del virus. En muestras negativas obtenidas 12 días o más después del inicio de los síntomas se debe realizar una prueba confirmatoria para detectar e informar SARS-CoV-2 IgG.

USO PREVISTO

SCoV-2 Detect™ IgM ELISA es una prueba de diagnóstico *in vitro* para la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra el SARS-CoV-2 en suero humano.

SCoV-2 Detect™ IgM ELISA está diseñada para ayudar a identificar a los individuos con una respuesta inmunitaria adaptativa al SARS-CoV-2, que sugiere una infección reciente o previa. Al momento, se desconoce cuánto tiempo persisten los anticuerpos después de la infección y si la presencia de anticuerpos confiere inmunidad protectora. SCoV-2 Detect™ IgM ELISA se debe usar para el diagnóstico de la infección aguda por SARS-CoV-2.

Las pruebas se limitan a los laboratorios certificados conforme a las Enmiendas para la Mejora de los Laboratorios Clínicos (CLIA) de 1988, 42 USC §263a, que cumplen con los requisitos para realizar pruebas de alta complejidad.

Los resultados son para la detección de anticuerpos IgM contra el SARS-CoV-2. Los anticuerpos IgM contra el SARS-CoV-2 generalmente pueden detectarse en la sangre varios días después de la infección inicial, aunque no se conoce con exactitud

el tiempo en que los anticuerpos se encuentran presentes después de la infección. Los individuos pueden tener valores detectables del virus presentes durante varias semanas después de la seroconversión.

Los laboratorios dentro de Estados Unidos y sus territorios deben informar todos los resultados positivos a las autoridades de salud pública correspondientes.

Se desconoce la sensibilidad de SCoV-2 Detect™ IgM ELISA al poco tiempo de la infección. Los resultados negativos no excluyen la infección aguda por el SARS-CoV-2. Si sospecha de una infección aguda, es necesaria una prueba directa para el SARS-CoV-2.

Los resultados de falsos positivos para SCoV-2 Detect™ IgM ELISA ocurren debido a la reactividad cruzada de anticuerpos preexistentes u otras causas posibles.

SCoV-2 Detect™ IgM ELISA solo se debe utilizar con la autorización de uso de emergencia (EUA) de la Administración de Alimentos y Medicamentos.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El nuevo coronavirus, SARS-CoV-2 (el agente causante de la COVID-19), es el responsable de la pandemia de síntomas similares a la neumonía y las muertes asociadas desde fines del 2019 hasta el 2020. Se describió rápidamente la detección del brote inicial en la provincia china de Hubei y la necesidad posterior de un diagnóstico efectivo (Li et al., 2020; Wu et al., 2020; Zhou et al., 2020).

Se ha informado que los pacientes positivos para SARS-CoV-2 confirmados por PCR pueden seroconvertir y desarrollar anticuerpos contra los antígenos del SARS-CoV-2 entre 6 y 21 días después del inicio de los síntomas clínicos (Okba et al., 2020). La detección específica y confiable de anticuerpos IgM humanos contra el SARS-CoV-2 puede proporcionar la indicación de infección reciente.

SCoV-2 Detect™ IgM ELISA es un inmunoensayo cualitativo para la detección de anticuerpos IgM dirigidos a los antígenos relacionados con SCoV-2.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA es una prueba ELISA indirecta cualitativa para la detección de anticuerpos IgM dirigidos a los epítomos derivados del SARS-CoV-2. Las muestras de suero diluido se añaden a los pocillos recubiertos con antígeno y se incuban. Después de la incubación y el lavado, los anticuerpos humanos dirigidos a los antígenos SARS-CoV-2 permanecen unidos a la superficie de la placa. Luego se agrega a cada pocillo un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) dirigido a IgM humana. Después de la incubación, los pocillos de ELISA se lavan una vez más antes de agregar un sustrato de tetrametilbencidina (TMB). Finalmente se utiliza una solución de parada ácida para detener la reacción y se determina el grado de renovación enzimática del sustrato mediante la medición de la absorbancia a 450 nanómetros.

Se proporcionan controles positivos, negativos y de corte para garantizar la integridad de la prueba y para determinar el umbral específico del ensayo. Se pueden evaluar hasta 90 muestras con cada kit (ya que los controles se realizan por duplicado). Todo el procedimiento dura aproximadamente 1 hora y 50 minutos.

CONTENIDO DEL KIT

Advertencia: No utilice ningún reactivo cuando se haya dañado el embalaje.

El kit contiene los siguientes reactivos:

1. **TIRAS DE MICROVALORACIÓN PARA IGM RECUBIERTAS CON ANTÍGENO DE SCoV-2:** Contenedor de tiras en una bolsa de aluminio con cierre resellable, que contiene 96 pocillos de microvaloración de poliestireno recubiertos con antígeno de SCoV-2 en cada pocillo. Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.
2. **CONTROL NEGATIVO DE IGM CONTRA SCoV-2:** Un vial, 50 µl. Suero negativo. El control negativo ayudará a controlar la integridad del kit. Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.
3. **CONTROL POSITIVO DE IGM CONTRA SCoV-2:** Un vial, 50 µl. Muestra de control positivo. El control positivo ayudará a controlar la integridad del kit. Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.

4. **CONTROL DE CORTE DE IGM CONTRA SCoV-2:** Un vial, 50 µl. Muestra de control de corte. El control de corte ayudará a controlar la integridad del kit y a estimar el umbral correcto para determinar el estado de la muestra de prueba. Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.
5. **SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE DILUCIÓN DE LA MUESTRA PARA EL SCoV-2:** Dos botellas de 25 ml cada una, listas para usar. Solución amortiguada con Tris-HCl (pH 7.2-7.6) con Tween 20 (0.05 %), conservante (ProClin-300 al 0.05 %) y aditivos. La solución amortiguadora de la dilución de la muestra se utilizará para la dilución de la muestra de prueba y para controles. Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.
6. **CONJUGADO 100X PARA IGM CONTRA EL SCoV-2:** Un vial, 100 µl, que contiene anticuerpos marcados con peroxidasa de rábano picante en una solución amortiguadora de Tris base con ProClin-300 al 0.03 % - 0.05 %. Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.
7. **DILUYENTE CONJUGADO PARA EL SCoV-2:** Una botella, 9 ml. Contiene la solución diluyente para el conjugado 100X en una solución amortiguadora de Tris base con Timersal al 0.01 % como conservante. El conjugado 100X se diluye directamente en esta solución. El conjugado 100X solo debe diluirse en esta solución inmediatamente antes de realizar el ensayo. Debe descartarse el diluyente conjugado no utilizado. El diluyente conjugado es estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.
8. **SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE LAVADO 10X:** Una botella, 120 ml. Solución salina amortiguadora con fosfato concentrado 10X con Tween 20 (pH 6.8-7.0). Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.
9. **SUBSTRATO LÍQUIDO TMB:** Una botella, 12 ml, lista para usar. Contiene 3, 3', 5, 5'-tetrametilbencidina (TMB) y peróxido de hidrógeno en una solución amortiguadora de ácido cítrico-citrato (pH 3.3-3.8). Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento. Nota: El sustrato siempre debe almacenarse en la botella con protección contra la luz provista.
10. **SOLUCIÓN DE PARADA:** Una botella, 6 ml, lista para usar. Ácido sulfúrico 1N. Se usa para detener la reacción. Estable a 2-8 °C hasta la fecha de vencimiento.

Advertencia: Ácido fuerte. Utilice guantes protectores, mascarilla y gafas de seguridad. Descarte todos los materiales conforme a todas las normas y reglamentos de seguridad aplicables.

MATERIALES Y EQUIPO REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Espectrofotómetro ELISA capaz de medir la absorbancia a 450 nm
- Agua biológica o de alto grado
- Vasos y agitadores de tamaño adecuado
- Bomba de vacío
- Lavadora de placas automática
- Incubadora a 37 °C sin suministro de CO₂
- Propipetas de una sola vía de 1-10 µl, propipetas de una sola y de múltiples vías de 50-200 µl
- Tubos de polipropileno o placas de dilución de 96 pocillos
- Parafilm o cubierta de placa plástica
- Temporizador
- Agitadora vorticial

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- **Solamente para uso en diagnóstico *in vitro*** con autorización de uso de emergencia (EUA). Para utilizar de manera correcta el producto se debe tener conocimiento exhaustivo de este prospecto. Solo se obtendrán resultados confiables utilizando técnicas de laboratorio precisas y siguiendo con exactitud el prospecto.
- La FDA no autorizó o aprobó esta prueba; la FDA autorizó esta prueba en virtud de una EUA para uso en laboratorios certificados conforme a las CLIA para realizar pruebas de alta complejidad.
- Esta prueba ha sido autorizada solo para la presencia de anticuerpos IgM contra el SARS-CoV-2, no para otros virus o patógenos.
- Esta prueba solo se encuentra autorizada mientras dure la declaración de que existen circunstancias que justifiquen la autorización del uso de emergencia de pruebas de diagnóstico *in vitro* para la detección o diagnóstico de COVID-19 bajo la Sección 564 (b)(1) de la Ley, 21 USC § 360bbb-3 (b)(1), a menos que la autorización se rescinda o revoque antes.
- Los laboratorios dentro de Estados Unidos y sus territorios deben informar todos los resultados

positivos a las autoridades de salud pública correspondientes.

- Siga las precauciones estándares. Todas las muestras de pacientes y controles positivos deben considerarse potencialmente infecciosos y manejarse de acuerdo con un buen procedimiento de laboratorio.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- Todos los materiales de origen humano utilizados en la preparación del control negativo han resultado negativos para anticuerpos contra el VIH 1 y 2, el virus de la hepatitis C y el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. Sin embargo, ningún método de prueba puede garantizar una eficiencia del 100 %. Por lo tanto, todos los controles y antígenos humanos deben manejarse como material potencialmente infeccioso. Los centros para el control y la prevención de enfermedades y los institutos nacionales de salud recomiendan que los agentes potencialmente infecciosos se manejen dentro del nivel 2 de bioseguridad.
- Descarte los materiales peligrosos o biológicamente contaminados conforme a las prácticas de su organismo. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y conforme a los requisitos normativos vigentes.
- Utilice ropa protectora, protección para los ojos y guantes desechables mientras realiza el ensayo. Lávese bien las manos al finalizar.
- No coma, beba, fume ni se aplique cosméticos dentro del laboratorio donde se manipulan materiales de inmunodiagnóstico.
- No pipetee absorbiendo con la boca.

PRECAUCIONES TÉCNICAS

- Esta prueba debe realizarse solo en suero humano. No se ha validado el uso de sangre total, plasma u otras matrices de muestra.
- No mezcle varios lotes de ningún componente del kit dentro de un ensayo individual.
- Todos los reactivos deben equilibrarse a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de comenzar el ensayo. Los cambios de temperatura afectarán el ensayo.
- Evite la congelación y descongelación repetida de las muestras de suero a evaluar.
- Dispense los reactivos directamente de las botellas con puntas de pipeta limpias. La transferencia de reactivos puede provocar contaminación.
- Los pocillos de microvaloración no utilizados deben volverse a sellar inmediatamente en la bolsa de aluminio con cierre hermético con el

deseccante provisto. De lo contrario, pueden producirse resultados erróneos con esos micropocillos no utilizados.

- No utilice ningún componente luego de la fecha de vencimiento que aparece en su etiqueta.
- Evite la exposición de los reactivos al calor excesivo o la luz solar directa durante el almacenamiento y la incubación.
- Algunos reactivos pueden formar un ligero precipitado, mezclar suavemente antes de usar.
- El lavado incompleto afectará negativamente el resultado y el rendimiento del ensayo.
- Para minimizar la desviación potencial del ensayo debida a la variación en el tiempo de incubación del sustrato, se debe tener cuidado de agregar la solución de parada en los pocillos en el mismo orden y a la misma velocidad con la que agregó la solución TMB.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos.
- Evite la contaminación de la solución de sustrato TMB con la solución conjugada. La solución de sustrato TMB debe ser de color claro; un cambio de color azul antes del uso puede indicar contaminación.
- Use una punta de pipeta descartable limpia para cada reactivo, estándar, control o muestra.
Cubra el área de trabajo con papel absorbente desechable.

ADVERTENCIA: POSIBLE MATERIAL DE RIESGO BIOLÓGICO

Este kit contiene reactivos hechos con suero o plasma humano. A menos que se indique lo contrario, el suero o plasma utilizado ha sido inactivado por calor. Trate todos los sueros y kits utilizados como si contuvieran agentes infecciosos. Respete las precauciones establecidas contra los riesgos microbiológicos mientras realiza todos los procedimientos y siga los procedimientos estándar para el desecho adecuado de las muestras.

PELIGRO QUÍMICO

Las hojas de datos de seguridad (SDS) están disponibles para todos los componentes de este kit. Revise todas las SDS apropiadas antes de realizar este ensayo. Evite todo contacto entre manos y ojos o membranas mucosas durante la prueba. Si se produce contacto, consulte la SDS correspondiente para seguir el tratamiento adecuado.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Solo se debe usar suero humano para este ensayo, y se deben respetar las precauciones habituales para la punción venosa. La sangre obtenida por punción venosa debe dejarse coagular a temperatura ambiente (20-25 °C) entre 30 y 60 minutos, y luego centrifugarse de acuerdo con el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (Directriz aprobada por CLSI - Procedimientos para el manejo y procesamiento de muestras de sangre para pruebas de laboratorio estándares; GP44).
- Las pruebas deben realizarse cuanto antes, luego de la recolección. No deje sueros a temperatura ambiente por períodos prolongados. El suero separado no debe permanecer entre 20-25 °C por más de 8 horas. Si los ensayos no se completan en 8 horas, el suero debe refrigerarse a 2-8 °C. Si los ensayos no se completan dentro de las 48 horas, o si el suero separado se va a almacenar más de 48 horas, el suero debe congelarse a -20 °C o menos.
- Evite congelar y descongelar repetidamente las muestras, ya que esto puede deteriorar el analito. Los congeladores sin escarcha no son adecuados para almacenar muestras. Las muestras congeladas deben descongelarse a temperatura ambiente y mezclarse completamente, girándolas o invirtiéndolas suavemente antes de su uso. Siempre centrifugue rápidamente antes de usar.
- Si se van a enviar sueros, deben empacarse conforme a las regulaciones federales que consideran el transporte de agentes infecciosos.
- No utilice sueros si se observa alguna indicación de crecimiento microbiano.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

PRECAUCIÓN: El procedimiento de prueba debe seguirse rigurosamente. Cualquier desviación del procedimiento puede arrojar resultados erróneos. Lleve todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente (~25 °C) antes de usar. Mezcle bien los reactivos y las muestras antes de usar mediante inversión suave. NOTA: Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras de suero no deben descongelarse y congelarse repetidamente más de cuatro veces. Los sueros deben volver a dividirse en pequeñas alícuotas y almacenarse a -20 °C o menos.

Este ensayo está diseñado para realizarse manualmente. El lavado de la placa debe realizarse utilizando una lavadora de placas automatizada calibrada adecuadamente. InBios no ha optimizado este kit para utilizarlo con un sistema de procesamiento ELISA automatizado específico. Su uso con un sistema de procesamiento ELISA automatizado requerirá una validación adecuada para garantizar que los resultados sean equivalentes a las expectativas descritas en este prospecto.

Preparación de los reactivos:

• Preparación de la solución amortiguadora de lavado 1X

Diluya la solución amortiguadora de lavado 10X a 1X con agua biológica o de alto grado. Para preparar una solución amortiguadora de lavado 1X, mezcle 120 ml de solución amortiguadora de lavado 10X con 1080 ml de agua destilada (o desionizada). Mezcle bien para asegurarse de que cualquier precipitado se disuelva y que la solución sea uniforme. Una vez diluida a 1X, la solución puede almacenarse a temperatura ambiente hasta durante 6 meses. Etiquete adecuadamente la solución amortiguadora de lavado 1X y anote cuidadosamente la fecha de vencimiento en la etiqueta. Antes de usar verifique si hubo contaminación. Descarte si sospecha que hubo contaminación.

• Pocillos de tiras de microvaloración

Seleccione la cantidad de pocillos recubiertos requeridos para el ensayo. Los pocillos restantes no utilizados deben volver a envasarse inmediatamente con el desecante suministrado y almacenarse a 2-8°C hasta que estén listos para usarse o se hayan vencido.

• Preparación de la solución conjugada

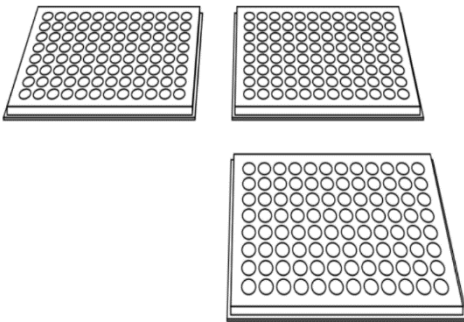
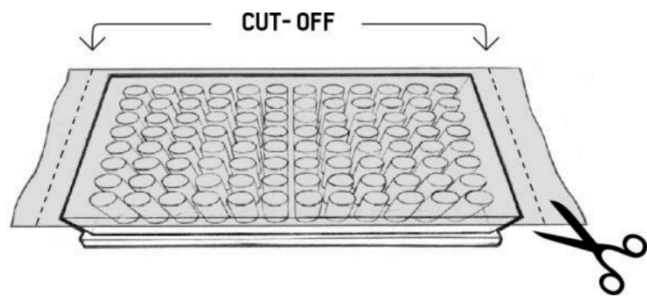
Agregue 90 µl de conjugado 100X para IgM contra SCoV-2 directamente a la botella de 9 ml

de diluyente conjugado para SCoV-2 (1 parte : 100 partes). Alternativamente, utilice una pipeta limpia para retirar el volumen requerido de diluyente conjugado y agregue el volumen necesario de conjugado 100X para la ELISA de SCoV-2 en un tubo de ensayo de polipropileno limpio para mantener la proporción 1:100. Mezcle invirtiendo la solución varias veces. Esta solución conjugada debe prepararse inmediatamente antes de realizar el ensayo y desecharse inmediatamente después de su uso en el ensayo.

Procedimiento del ensayo:

1. Los controles positivos, negativos y de corte deben analizarse por duplicado (y realizarse en cada placa, cada vez que se realiza un ensayo). Las muestras de suero desconocidas se pueden analizar por separado. Se pueden analizar hasta noventa muestras de prueba por separado con una placa completa. Coloque inmediatamente cualquier pocillo de placa ELISA sin usar nuevamente en el empaque original con el desecante provisto, selle adecuadamente y almacene a 2-8 °C.
2. Diluya cada control y cada muestra de prueba 1:100 agregando 4 µl de muestra a 396 µl de solución amortiguadora de lavado para SCoV-2. Diluya las muestras en un bloque de dilución de muestra dedicado o en un tubo de tamaño apropiado.
3. Agregue 50 µl de los controles diluidos 1:100 y las muestras de prueba en los espacios apropiados en la placa de la tira de microvaloración revestida con antígeno SCoV-2 (placa ELISA). Anote y registre las ubicaciones de todos los controles y muestras de prueba en los pocillos de la placa ELISA.
4. Cubra la parte superior de la placa con parafilm (o una cubierta de placa plástica) y elimine el exceso de parafilm de los bordes de la placa.

Nota: Esto sirve para asegurarse de que la distribución de la temperatura se propague uniformemente en todos los pocillos desde el fondo y los lados; cualquier parafilm adicional se puede cortar una vez que la parte superior está sellada para bloquear la evaporación.



MÉTODO CORRECTO

Nota: No apile las placas una encima de la otra. Deben extenderse como una sola capa. Esto es muy importante para la distribución uniforme de la temperatura. No utilice CO₂ u otros gases. No coloque las placas en contacto con sustancias húmedas como toallas de papel húmedas, etc.

5. Cubra la placa con parafilm (o una cubierta de placa plástica) e incube la(s) placa(s) a 37 °C durante 1 hora en la incubadora.
6. Después de la incubación, lave la placa 6 veces con una lavadora automática de placas utilizando solución amortiguadora de lavado 1X. Use 300 µl por pocillo en cada ciclo de lavado.
7. Prepare la solución conjugada (90 µl de conjugado 100X: 9 ml de diluyente

conjugado) y agregue 50 µl por pocillo de esta solución conjugada en todos los pocillos usando una propipeta de múltiples vías. Deseche la solución conjugada restante.

8. Cubra la placa con parafilm (o una cubierta de placa plástica) e incube la(s) placa(s) a 37 °C durante 30 minutos en la incubadora.
9. Después de la incubación, lave la placa 6 veces con la lavadora automática de placas utilizando solución amortiguadora de irrigación 1X.
10. Agregue 75 µl por pocillo de sustrato líquido TMB dentro de todos los pocillos con una propipeta de múltiples vías.
11. Incube la placa descubierta a temperatura ambiente **en la oscuridad** durante 20 minutos.
12. Agregue 50 µl por pocillo de solución de parada dentro de los pocillos apropiados con una propipeta de múltiples vías. Asegúrese de agregar la solución de parada en el mismo orden y aproximadamente a la misma velocidad con la que se incorporó el TMB. (Nota: Como el sustrato TMB produce una reacción enzimática con el conjugado HRP, es esencial que este punto de tiempo de incubación se respete lo más estrictamente posible). Deje reposar la placa descubierta a temperatura ambiente durante 1 minuto.
13. Lea la densidad óptica a 450 nm (DO₄₅₀) con un lector de microplacas. **NO REDUZCA NI NORMALICE NINGÚN VALOR EN BLANCO O POCILLO.**
14. Registre la DO₄₅₀ sin procesar y evalúe el estado de la muestra como se indica en las secciones de control de calidad e interpretaciones de resultados.

CONTROL DE CALIDAD

Cada kit contiene controles positivos, negativos y de corte. Los controles negativos y positivos están destinados a monitorear fallos sustanciales del reactivo. La prueba es inválida y debe repetirse si las muestras de control no cumplen con las especificaciones. Si la prueba es inválida, los resultados no se pueden utilizar. Los requisitos de control de calidad (CC) deben realizarse de acuerdo con las regulaciones locales, estatales y federales, o los requisitos de acreditación y los procedimientos de control de calidad del estándar de su laboratorio. Se recomienda que el usuario consulte el CLSI C24 y 42 CFR 493.1256 para obtener orientación sobre prácticas de control de calidad apropiadas. Los siguientes resultados se proporcionan estrictamente con fines orientativos y son aplicables solamente para lecturas espectrofotométricas.

Primero, calcule los valores de control medios (promedio) negativos, positivos y de corte de la DO_{450} sin procesar como se muestra en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: control negativo SCoV-2

	DO₄₅₀
Replica 1	0.145
Replica 2	0.133
Suma	0.278

Control negativo promedio = $0.278 \div 2 = 0.139$

Ejemplo 2: control positivo SCoV-2

DO₄₅₀

Replica 1	1.876
Replica 2	1.685
Suma	3.561

Control positivo promedio = $3.561 \div 2 = 1.7805$

Ejemplo 3: control de corte SCoV-2

DO₄₅₀

Replica 1	0.645
Replica 2	0.571
Suma	1.216

Control de corte promedio = $1.216 \div 2 = 0.608$

Finalmente, verifique que se cumplan los requisitos de control de calidad que se indican en la siguiente tabla.

<u>Requisitos de control de calidad</u>	
Control	Requisito
Control positivo	$DO \geq 0.85$
Control negativo	$DO < 0.25$
Control de corte	$0.25 < DO < 0.85$

Resumen: Para que se considere válido el ensayo se deben obtener los resultados de la tabla anterior. El incumplimiento de estos criterios indica el deterioro de los reactivos o un error en el procedimiento de prueba, y el ensayo debe repetirse.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El valor de corte del ensayo se determinó mediante la detección de una gran cantidad (> 100) de muestras de suero humano normal (SHN) que se recolectaron antes del brote de la COVID-19 (~noviembre de 2019). La selección de corte se realizó estimando la media de las muestras negativas más tres (3) desviaciones estándar.

El estado de la muestra desconocida se determina calculando primero el corte del ensayo (mostrado anteriormente en el Ejemplo 3), seguido del cálculo de la relación de la densidad óptica (DO₄₅₀) dividida por el corte.

Calcular la relación del estado inmunológico (ISR): la relación del estado inmunológico (ISR) se calcula a partir de la relación de la densidad óptica (DO) obtenida con la muestra de prueba dividida por el valor de corte calculado. Calcule la ISR para cada muestra de prueba. Si las muestras desconocidas se analizaron por duplicado, calcule la densidad óptica promedio (DO₄₅₀) antes de dividirla por el corte para determinar la ISR.

Ejemplo 4: Calcule la ISR para una muestra

Identificación de la muestra	DO ₄₅₀ sin procesar
Muestra # 1 desconocida	0.952

Valor ISR = DO sin procesar ÷ Valor de corte

$$\text{Valor ISR} = 0.952 \div 0.608 = 1.566$$

<u>Valor ISR</u>	<u>Resultados</u>	<u>Interpretación</u>
0.9 - 1.1	Repetición de la prueba	Si se analizan por separado, los sueros con valores de DO cercanos al corte ($0.9 < \text{ISR} < 1.1$) deben repetirse por duplicado junto con los controles para verificar el estado de la muestra. Si el valor promedio de ISR de la repetición de la prueba duplicada es ≥ 1 , la muestra debe considerarse positiva para anticuerpos IgM contra SCoV-2. Si el valor promedio de ISR de la repetición de la prueba duplicada es < 1 , la muestra debe considerarse negativa para anticuerpos IgM contra SCoV-2.
≥ 1.1	Positivo	Presencia de anticuerpos IgM detectables dirigidos al antígeno de SCoV-2.
≤ 0.9	Negativo	No se encontraron anticuerpos IgM detectables dirigidos al antígeno de SCoV-2. El resultado no descarta la posibilidad de infección por SARS-CoV-2.

LIMITACIONES

- Las características de rendimiento del ensayo no se han establecido para la determinación del resultado visual.
- Las características de rendimiento del ensayo no se han establecido para otras matrices aparte del suero.
- El ensayo no debe utilizarse para diagnosticar o excluir una infección aguda. Los resultados no deben usarse como el único fundamento para las decisiones de atención del paciente.
- Un resultado positivo puede no indicar infección previa por SARS-CoV-2. Considere otra información, como por ejemplo la historia clínica y la prevalencia local de la enfermedad, al evaluar la necesidad de una segunda prueba serológica diferente para confirmar una respuesta inmunitaria.
- Un resultado negativo para un sujeto individual indica la ausencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 detectables. Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2 y no deben usarse como el único fundamento para las decisiones de atención del paciente. Se puede producir un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 presentes en la muestra se encuentra por debajo de los límites de detección del ensayo, o si los anticuerpos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge la muestra.
- Al momento se desconoce si la presencia de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 confiere inmunidad a la reinfección.
- Pueden producirse resultados falsos positivos debido a la reactividad cruzada con anticuerpos contra otros coronavirus.
- Las características de rendimiento del ensayo no se han establecido para las pruebas de sangre del cordón umbilical, para analizar neonatos, para realizar pruebas prenatales.
- Deben evitarse para el análisis con este ensayo las muestras hemolizadas.
- Los resultados de los pacientes inmunodeprimidos deben interpretarse con precaución.
- Los resultados del ensayo deben interpretarse solo en el contexto de otros hallazgos de laboratorio y el estado clínico total del paciente.

CONDICIONES DE AUTORIZACIÓN PARA EL LABORATORIO

Se encuentran en el sitio web de la FDA la carta de autorización de SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA, la hoja de datos para proveedores de atención médica autorizada, la hoja de datos para pacientes autorizada y el etiquetado autorizado:

<https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/vitro-diagnostics-euas> Los laboratorios autorizados que utilizan SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA deben cumplir con las condiciones de autorización indicadas en la carta de autorización que se detalla a continuación:

- Los laboratorios autorizados ^a que utilicen SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA incluirán todas las hojas de datos autorizadas junto con los informes de resultados de las pruebas. En circunstancias apremiantes, se pueden utilizar otros métodos apropiados para difundir estas hojas de datos, que pueden incluir los medios masivos de comunicación.
- Los laboratorios autorizados utilizarán SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA como se describe en las instrucciones de uso. No se permiten desviaciones de los procedimientos autorizados, incluidos los tipos autorizados de muestras clínicas, los materiales controles autorizados, otros reactivos auxiliares autorizados y los materiales autorizados necesarios para usar SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA.
- Los laboratorios autorizados que reciban SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA notificarán a las autoridades de salud pública pertinentes su intención de realizar el ensayo antes de iniciar las pruebas.
- Los laboratorios autorizados que utilicen SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA tendrán un proceso para informar los resultados de las pruebas a los proveedores de atención médica y las autoridades de salud pública pertinentes, según corresponda.
- Los laboratorios autorizados recopilarán información sobre el rendimiento de SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA e informarán a la DMD/OHT7-OIR/OPEQ/CDRH (por correo electrónico: CDRH EUA Reporting@fda.hhs.gov) y al soporte técnico de InBios (<https://inbios.com/technical-support/>) cualquier

sospecha de resultados reactivos o no reactivos falsos y desviaciones significativas de las características de rendimiento establecidas.

- Todo el personal de laboratorio que utilice SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA debe estar debidamente capacitado en técnicas de inmunoensayo, y utilizar el equipo de laboratorio y de protección personal adecuados al manipular este kit, así como utilizar SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA de acuerdo con la documentación autorizada. Todo el personal de laboratorio que utilice el ensayo también debe estar capacitado y familiarizado con la interpretación de los resultados de SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA.
- InBios International, Inc., los distribuidores autorizados y los laboratorios autorizados que utilicen SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA se asegurarán de que todos los registros asociados con esta autorización EUA se conserven hasta que la FDA notifique lo contrario. Dichos registros se pondrán a disposición de la FDA para su inspección previa solicitud.

^a La carta de autorización se refiere a los "laboratorios certificados conforme a las Enmiendas para la Mejora de los Laboratorios Clínicos (CLIA) de 1988, 42 USC §263a, que cumplen con los requisitos para realizar pruebas de alta complejidad" como "laboratorios autorizados".

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Coincidencia positiva

Se estimó la coincidencia de porcentaje positiva (PPA) de SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA analizando un panel de muestras de suero obtenidas de 85 individuos que dieron positivo en el análisis de PCR SCoV-2 previamente. De las 120 muestras proporcionadas por los 85 sujetos, 111 muestras resultaron reactivas (positivas) con SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA. La reactividad se correlacionó con los días transcurridos después del inicio de los síntomas. A continuación se muestran los resultados.

Resumen de resultados en relación con los días transcurridos desde el inicio de los síntomas

Días transcurridos desde el inicio de los síntomas	No. PCR positivo en cualquier momento	SCoV-2 <i>Detect</i> TM IgM ELISA		
		No. resultados positivos	PPA	95 %CI*
≤7	9	6	66.67 %	35.42 % - 87.94 %
8-14	38	35	92.11 %	79.20 % - 97.28 %
≥15	51	48	94.12 %	84.08 % - 97.98 %
desconocido	22	22	100 %	85.13 % - 100 %

Coincidencia general de porcentaje positiva para SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA

Coincidencia de porcentaje positiva (PPA)	92.50 % (111/120) Intervalo de confianza* del 95 %: 86.36 % - 96.00 %
--	---

*intervalo de confianza del 95 % calculado por el método de Wilson.

Coincidencia negativa

Se estimó la coincidencia de porcentaje negativa (NPA) de SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA analizando un panel de 95 muestras de suero humano normal. 94 de las 95 muestras resultaron no reactivas (negativas) con SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA.

Coincidencia de porcentaje negativa (NPA)	98.95 % (94/95) Intervalo de confianza* del 95 %: 94.28 % - 99.81 %
--	---

*intervalo de confianza del 95 % calculado por el método de Wilson.

Reactividad cruzada (especificidad analítica)

La reactividad cruzada del kit SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA se evaluó probando muestras seronegativas de SARS-CoV-2 de pacientes con anticuerpos contra otras infecciones virales y autoanticuerpos que podrían arrojar resultados falsos positivos. También se analizaron ciento ochenta muestras de suero humano normal (SHN) que se recolectaron en EE. UU. antes del brote de la COVID-19 (es decir, negativos conocidos). SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA no muestra reactividad cruzada contra los anticuerpos IgM contra los virus de la gripe A, la gripe B, la hepatitis B, la hepatitis C, la inmunodeficiencia humana, los virus sincitiales respiratorios o los anticuerpos antinucleares o los anticuerpos humanos anti-ratón. 178 de 180 SHN dieron negativo.

Categoría	Cantidad de muestras analizadas	Reactivo número
Antinfluenza A/B	7	0
Antihepatitis B	5	0
Antihepatitis C	5	0
Anticuerpo antinuclear	5	0
Factor reumatoide	18	0
Anticuerpo humano anti-ratón	3	0
Anti-VIH	8	0
Antivirus sincitial respiratorio	4	0
Suero humano normal	180	2

Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad de SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA haciendo que tres operadores probaran el kit SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA en tres días diferentes (un total de nueve ejecuciones). Personal capacitado en InBios International realizó todas las ejecuciones según las instrucciones de uso del kit y se utilizó el mismo lote de kits en todas las ejecuciones. Cada ejecución incluyó controles del kit (positivo, negativo y de corte) y un panel de suero con siete miembros compuesto por muestras positivas, negativas y limítrofes. Todos los controles del kit y cada miembro del panel se analizaron por triplicado.

Cada muestra se analizó un total de 27 veces. Las muestras positivas resultaron positivas 27 veces, las muestras negativas resultaron negativas 27 veces.

A continuación, se resume la variabilidad de las relaciones de estados inmunológicos (ISR) dentro de la ejecución, entre ejecuciones, entre operadores y general. Debido a que los valores promedio tendieron a ser más bajos para las muestras negativas, el CV % tendió a ser más alto, pero el porcentaje de coincidencia con el resultado esperado se mantuvo alto.

			Dentro de la ejecución (repetibilidad)		Entre ejecuciones		Entre operadores		Reproducibilidad general (dentro del laboratorio)	
Descripción de muestra	Valor promedio	N	DE	CV %	DE	CV %	DE	CV %	DE	CV %
Panel 1	0.410	27	0.075	18.4 %	0.057	13.8 %	0.033	8.1 %	0.100	24.3 %
Panel 2	4.226	27	0.166	3.9 %	0.293	6.9 %	0.449	10.6 %	0.561	13.3 %
Panel 3	1.060	27	0.049	4.6 %	0.090	8.5 %	0.112	10.6 %	0.152	14.3 %
Panel 4	0.336	27	0.056	16.7 %	0.039	11.7 %	0.000	0.0 %	0.068	20.3 %
Panel 5	3.325	27	0.139	4.2 %	0.174	5.2 %	0.435	13.1 %	0.488	14.7 %
Panel 6	0.316	27	0.036	11.3 %	0.041	12.9 %	0.033	10.5 %	0.064	20.1 %
Panel 7	1.028	27	0.031	3.0 %	0.088	8.5 %	0.209	20.3 %	0.228	22.2 %

Interferencia

Se evaluaron los posibles interferentes en el suero humano a niveles fisiológicamente relevantes o por encima de ellos para determinar si podían causar falsos positivos o falsos negativos en el kit SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA. Se añadieron a las muestras a diferentes concentraciones de anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2 posibles sustancias interferentes, y luego se analizaron por duplicado. No se observó interferencia para concentraciones hasta 10 mg/ml de hemoglobina, 0.4 mg/ml de bilirrubina (directa o indirecta), 15 mg/ml de triglicéridos y 4 mg/ml de colesterol.

A continuación se muestran los posibles interferentes potenciales de la sangre, sus concentraciones normales en sangre y suero humanos, y las concentraciones analizadas en este estudio.

Sustancia interferente	Concentración normal	Concentración de prueba	Solvente
Hemoglobina	<0.01-0.05 mg/ml para suero, 110-180 mg/ml para sangre total	10 mg/ml	Solución amortiguadora de la dilución de la muestra (SDB)
Bilirrubina (directa e indirecta)	0.002 - 0.01 mg/ml normal, > 0.025 mg/ml icterico	0.4 mg/ml	0.1N NaOH
Triglicéridos	<1.30-2.00 mg/ml	15 mg/ml	Solución amortiguadora de la dilución de la muestra (SDB)
Colesterol	1.70-1.90 mg/ml normal, 2.80-3.20 mg/ml elevado	4 mg/ml	Alcohol isopropílico

REFERENCIAS

- Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L. y Lu, S. (2020). Patogénesis inmune molecular y diagnóstico de la COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. <https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2020.03.001>
- Okba, N. M. A., Muller, M. A., Li, W., Wang, C., GeurtsvanKessel, C. H., Corman, V. M., Lamers, M. M., Sikkema, R. S., de Bruin, E., Chandler, F. D., Yazdanpanah, Y., le Hingrat, Q., Descamps, D., Houhou-Fidouh, N., Reusken, C. B. E. M., Bosch, B.-J., Drosten, C., Koopmans, M. P. G., y Haagmans, B. L. (2020). Respuestas de anticuerpos específicos de SARS-CoV-2 en pacientes con COVID-19. *MedRxiv*, 2020.03.18.20038059. <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038059>
- Okba, N. M. A., Muller, M. A., Li, W., Wang, C., GeurtsvanKessel, C. H., Corman, V. M., et al. (2020). Síndrome respiratorio agudo grave Coronavirus 2 - Respuestas de anticuerpos específicos en pacientes con enfermedad por coronavirus 2019. *Emerging Infectious Diseases*, 26(7).
- Udugama, B., Kadhiresan, P., Kozlowski, HN, Malekjahani, A., Osborne, M., Li, VYC, Chen, H., Mubareka, S., Gubbay, J., y Chan, W.C.W. (2020). Diagnóstico de la COVID-19: la enfermedad y las herramientas para la detección. *ACS Nano*. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02624>
- Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M.A., et al. (2020). Evaluación virológica de pacientes hospitalizados con COVID-2019. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y.-M., Wang, W., Song, Z.-G., Hu, Y., Tao, Z.-W., Tian, J.-H., Pei, Y.-Y., Yuan, M.-L., Zhang, Y.-L., Dai, F.-H., Liu, Y., Wang, Q.-M., Zheng, J.-J., Xu, L., Holmes, E. C., y Zhang, Y.-Z. (2020). Un nuevo coronavirus asociado con la enfermedad respiratoria humana en China. *Nature*, 579(7798), 265–269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- Yong, S.E.F., Anderson, D.E., Wei, W.E., Pang, J., Chia, W.N., Tan, C.W., et al. (2020). Conexión de grupos de COVID-19: una investigación epidemiológica y serológica. *The Lancet Infectious Diseases*. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30273-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30273-5)
- Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H.-R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C.-L., Chen, H.-D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R.-D., Liu, M.-Q., Chen, Y., Shen, X.-R., Wang, X., ... Shi, Z.-L. (2020). Un brote de neumonía asociado con un nuevo coronavirus probablemente originado de un murciélago. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012->



InBios International, Inc.
307 Westlake Ave. N., Suite 300
Seattle, WA 98109 EE. UU.
1-866-INBIOS1 (línea gratuita, EE.UU.)
1-206-344-5821 (internacional)
www.inbios.com

Número de pieza: 900263-01
Fecha de entrada en vigencia: 08/31/2020

REF N.º. de catálogo COVE-M



Nota: Se pueden obtener copias adicionales de este folleto de paquete del kit SCoV-2 *Detect*TM IgM ELISA en línea en www.bit.ly/cove-m-sp. Las copias en papel están disponibles por pedido en inquiries@inbios.com