

**VIASURE**

**Viral Positive Control Kit**



**SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2)**

**CE IVD**



This instruction for use applies to the following references / *Esta instrucción de uso aplica para las siguientes referencias:*

PRODUCT / PRODUCTO	REFERENCE / REFERENCIAS
VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit	VS-VP1SDL
VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit	VS-VP101SDL

Table A 1. References / *Referencias.*

## Content

1. Intended use .....	3
2. Summary and Explanation .....	3
3. Principle of the procedure .....	4
4. Reagents provided .....	4
5. Reagents and equipment to be supplied by the user .....	4
6. Transport and storage conditions .....	5
7. Warnings and Precautions .....	5
8. Test procedure .....	6
8.1 Reconstitution of the Positive Control .....	6
8.2 Nucleic Acid Extraction .....	6
8.3 Real-Time PCR .....	7
9. Result interpretation .....	8
10. Limitations of the test .....	8
11. Quality control .....	9
12. Performance characteristics .....	9

## Contenido

1. Uso previsto .....	10
2. Introducción y explicación .....	10
3. Procedimiento .....	11
4. Reactivos suministrados .....	11
5. Material requerido y no suministrado .....	11
6. Condiciones de transporte y almacenamiento .....	12
7. Precauciones para el usuario .....	12
8. Procedimiento del test .....	13
8.1 Reconstitución del control positivo .....	13
8.2 Extracción de Ácidos Nucleicos .....	14
8.3 PCR en tiempo real .....	14
9. Interpretación de resultados .....	15
10. Limitaciones del test .....	15
11. Control de calidad .....	16
12. Características del test .....	16
Bibliography/Bibliografía .....	17
Symbols for IVD components and reagents/Símbolos para reactivos y productos para diagnóstico in vitro .....	17
Trademarks .....	17

## ENGLISH

---

### 1. Intended use

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit is intended for monitoring the whole reverse transcription quantitative real-time PCR (RT-qPCR) process, from nucleic acid extraction to reverse transcription and amplification steps.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit contains non-replicative and non-infectious SARS-CoV-2 Delta variant (B.1.617.2) viral particles that are expected to be processed along with respiratory samples from individuals with clinical suspicion of SARS-CoV-2 infection.

This Kit is intended for use by qualified and trained clinical laboratory personnel specifically instructed and trained in molecular techniques and *in vitro* diagnostic procedures.

### 2. Summary and Explanation

The SARS-CoV-2 virus was detected for the first time in Wuhan (China) on December 31<sup>st</sup>, 2019. During 2020, the virus spread progressively throughout the world and on March 11<sup>th</sup>, the WHO decreed the state of pandemic.<sup>1</sup>

The appearance of mutations is a natural and expected event within the evolution process of the virus. In fact, some specific mutations define the viral genetic groups that are currently circulating globally. The mutations identified to date remain within the expected patterns for a coronavirus. Thanks to the genetic sequencing of the pathogen worldwide, it has been possible to establish patterns of dispersal and evolution of the virus.<sup>2,3</sup>

Delta variant (B.1.617.2 lineage), firstly reported in India in December 2020, was closely associated with a huge COVID-19 increase in this country during Spring 2021. It has spread over 60 countries due to its ability to invade the host's immune system. Delta variant has 23 mutations compared to the first identified SARS-CoV-2 strain. Twelve of those mutations are in the Spike protein and facilitate the viral fusion.<sup>4</sup> On May 2021, the European Centre of Disease Control and Prevention (ECDC) upgraded B.1.617.2 to a variant of concern (VOC), after new information became available on increased transmissibility and some impact on vaccine effectiveness.<sup>5</sup>

The appearance of variants that increase the transmissibility of the virus, its virulence or that escape the action of the neutralizing antibodies generated after natural infection or the vaccine, constitute a first-order public health problem that can have an important impact on control of the pandemic. Diagnosis of SARS-CoV-2 variants can be problematic. Among the diagnostic methods, the real-time PCR technique has stood out for its sensitivity, specificity, and its ability to process large numbers of samples in a reduced turnaround time.<sup>6,7</sup>

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit improves the diagnosis of SARS-CoV-2 Beta variant infection by identifying false negative or false positive results that may occur because of a failure during the nucleic acid extraction process or the RT-qPCR reaction. Many factors can lead to invalid results, such as low RNA yields after nucleic acid extraction, low reverse transcription efficiency or cross-contamination.

### 3. Principle of the procedure

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit contains non-replicative and non-infectious recombinant viral particles in a lyophilized format, which have been created using the lentiviral system<sup>8</sup>. This system is based on the ability of lentivirus to package foreign RNA inside cells. The cells are co-transfected with two different lentiviral vectors: the packaging vector, which encodes for lentiviral structural proteins, lentiviral enzymes and lentiviral gene regulatory proteins, and the transfer vector, which contains the viral genome sequence that is completely customizable. This viral genome is bounded to lentiviral enzymes and enclosed by a lentiviral capsid that is surrounded by a matrix. This, in turn, is surrounded by a lipid bilayer (envelope) taken from the membrane of a cell when a newly formed viral particle buds from the cell. This viral particle is non-infectious as it lacks the envelope glycoprotein that allows the virus to enter the cell and, in addition, it is heat-treated<sup>9</sup>. This viral particle is also non-replicative as it is a defective virus without the ability to produce new viral particles.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit contains viral particles of SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) variant, which contain the whole genome of this variant of the virus.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit is designed for monitoring the performance of all RT-qPCR assays whose target regions belong to SARS-CoV-2 Delta variant genome. The RNA sequences are homologous to the SARS-CoV-2 strain SARS-CoV-2/human/JPN/SARS-CoV-2, B.1.617.2 lineage, Delta variant/2021 (GenBank: OK091006.1).

### 4. Reagents provided

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit includes the following materials and reagents detailed in Table 1.

Reagent/Material	Description	Colour	Amount
Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control	Non-infectious lyophilized viral particle	Red	4/1 vials
Viral Rehydration Buffer	Solution to reconstitute the lyophilized product	Transparent vial with green cap	1 vial x 1 mL
Viral Negative Control	Non template control	Transparent vial with violet cap	4/1 vials x 1 mL

Table 1. Reagents and materials provided in VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit.

### 5. Reagents and equipment to be supplied by the user

The following list includes the materials that are required for use but not included in the VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit:

- Real-Time PCR instrument (thermocycler).
- Nucleic acid extraction kit.
- Real-Time PCR assay.
- Ribonuclease (RNase)/ Deoxyribonuclease (DNase) free tubes.
- Vortex.
- Micropipettes.
- Filter tips.
- Powder-free disposable gloves.

## 6. Transport and storage conditions

- The kits can be shipped and stored at 2-40°C until the expiration date which is stated on the label.
- The **Viral Rehydration Buffer** is intended for **four uses**. It is recommended to separate it into four aliquots (see section 8 "Test procedure") and store it at 2-40°C until the expiration date which is stated on the label.
- Each vial of **Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control** is intended for **one use**. Once this Positive Control has been reconstituted (see section 8 "Test procedure"), it must be subjected to nucleic acid extraction and RT-qPCR. If the reconstituted vial cannot be processed immediately after rehydration, store at 4°C or 25°C for up to 24 hours or freeze at -20°C or -80°C for a longer period (do not refreeze).
- Each vial of **Viral Negative Control** is intended for **one use**. Store at 2-40°C until use.
- It is recommended to separate the RNA extracted from the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control into aliquots to minimize freeze-thaw cycles. The RNA has been validated to remain stable after 10 freeze-thaw cycles at either -20°C or -80°C.

## 7. Warnings and Precautions

- The product is intended for use by qualified and trained clinical laboratory personnel specifically instructed and trained in the techniques of real-time PCR and *in vitro* diagnostic procedures (including training on the real-time PCR instrument (thermocycler) and nucleic acid extraction system).
- Do not use past expiration date.
- Do not use reagents if the protective pouches are open or broken upon arrival.
- Do not use reagents if desiccant is not present or broken inside reagent pouches.
- Do not remove desiccant from reagent pouches once is open.
- Do not mix reagents from different pouches and / or kits and / or lots and / or another supplier.
- Protect the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control against from humidity. Prolonged exposure to humidity may affect product performance.
- An appearance of the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control in stabilized format, normally found at the bottom of the tube, different from the usual one (without conical shape, inhomogeneous, smaller/larger in size and/or colour different from whitish) does not alter the functionality of the Positive Control.
- Design a unidirectional workflow. It should begin with the aliquots of the Viral Rehydration Buffer in a clean area, and then move to the extraction area, where the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control is rehydrated and extracted along with the Viral Negative Control and the samples with clinical suspicion of SARS-CoV-2 infection. Finally, move on to the nucleic acid amplification and detection area. Do not return samples, equipment, and reagents to the area in which the previous step was performed.
- Always avoid microbial and RNase/DNase contamination of reagents. The use of sterile RNase/DNase-free disposable aerosol resistant or positive displacement pipette tips is recommended.
- Follow Good Laboratory Practices. Wear protective clothing, use disposable gloves, goggles, and mask. Do not eat, drink, or smoke or apply cosmetic products in the working area. Once you finish the test wash your hands.
- The Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control and the Viral Negative Control should be treated as clinical specimens and they should undergo the same process. Specimens must be treated as potentially infectious and/or biohazardous, as well as all the reagents and materials that have been exposed to the samples and they must be handled according to the national safety regulations. Take necessary precautions during the collection, transport, storage, handling, and disposal of samples.

- The viral particles that constitute the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control are non-replicative since they are not capable of producing new viral particles. In addition, they are non-infectious, as they lack the envelope glycoprotein, and they are heat-treated. The viral particles confer resistance to puromycin, so uninfected cells are naturally sensitive to this antibiotic, while infected cells are resistant. The non-infectivity of the virus has been proven by the absence of colonies resistant to puromycin after infection with the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control.
- Samples and reagents must be handled in a biological safety cabinet. Use personal protective equipment (PPE) consistent with current guidelines for the handling of potentially infectious samples. Dispose of waste in compliance with local, state, and federal regulations.
- Regular decontamination of commonly used equipment is recommended, especially micropipettes and work surfaces.
- In accordance with Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH), VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit does not require Material Safety Data Sheets on account of their classification as non-hazardous to health and the environment because it does not contain substances and/or mixtures which meet the hazard classification criteria available in Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) or which are in concentrations higher than the value established in the mentioned regulation for their declaration.
- Consult each nucleic acid extraction kit, automated extraction system, RT-qPCR kit or real-time PCR instrument's reference manual for additional warnings, precautions, and procedures.

## 8. Test procedure

### 8.1 Reconstitution of the Positive Control

The Viral Rehydration Buffer is intended for four uses, so it is recommended to separate it into **four aliquots (240 µl/each** in RNase/DNase-free tubes) to avoid contamination between uses. This step should be performed in a clean area separate from the Extraction Area and before handling the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control. The aliquots can be stored at 2-40°C until the expiration date which is stated on the label.

Reconstitute the lyophilized Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control (red vial) by adding **220 µl** of the supplied **Viral Rehydration Buffer** (transparent vial with green cap previously aliquoted) and vortex thoroughly. It is recommended to perform this step in the Extraction Area and immediately processing it along with the Viral Negative Control (transparent vial with violet cap) and the clinical specimens. If the reconstituted vial cannot be processed immediately after rehydration, see section 6 "Transport and storage conditions".

In case the Viral Rehydration Buffer (supplied in the kit) is replaced by another rehydration buffer, this must be validated by the final user.

### 8.2 Nucleic Acid Extraction

The Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control and the Viral Negative Control must be subjected to the same nucleic acid extraction process than clinical samples. Any manual or automatic optimized system from human clinical specimens can be used for nucleic acid extraction, following the manufacturer's instructions or the in-house protocol.

The following commercially available nucleic acid extraction kits included in table 2 have been validated with VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit.

Nucleic acid extraction kit	Equipment
MagDEA® Dx SV (Precision System Science Co.)	MagLEAD® 12gC Instrument
QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen)	N/A
Invisorb® Spin Universal Kit (Invitek)	N/A
Maxwell® RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit (Promega)	Maxwell® RSC Instrument
MagMAX™ Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific)	KingFisher Flex System
MagCore® Viral Nucleic Acid Extraction Kit (RBC Bioscience)	MagCore®HF16 automated Nucleic Acid Extractor System
DNA/RNA Extraction Kit (Nanjing Vazyme Medical Technology Co.)	Vazyme VNP-32YL

Table 2. Nucleic acid extraction kits compatible with VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit.

### 8.3 Real-Time PCR

The RNA obtained in the nucleic acid extraction process can be amplified using any in-house or commercially available RT-qPCR kit whose targets belong to SARS-CoV-2 Delta variant genome. Manufacturer's instructions for the Real-Time PCR kits or the in-house protocol must be followed.

These controls must not be substituted for the positive and negative controls provided with the RT-qPCR kits.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit has also been validated with the following commercial RT-qPCR kits, following the manufacturer's instructions.

- VIASURE SARS-CoV-2 Variant I Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE *Flu A, Flu B* & SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2, *Flu* & *RSV* Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 *S gene* Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 (*N1 + N2*) Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 *Triplex (ORF1ab, E & N genes)* Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 *del 69/70, ORF1ab & N genes* Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 (*HV 69/70 del, L452R, ORF1ab & N gene*) Real Time PCR Detection Kit.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit must follow the same diagnostic procedure as samples with clinical suspicion of SARS-CoV-2 infection. If the nucleic acid extraction or RT-qPCR conditions differ from those validated here, the procedure must be validated by the final user.



## 9. Result interpretation

The Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control and the Viral Negative Control must be included in each run of nucleic acid extraction and RT-qPCR. The Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control is used to monitor the performance of the whole process, whereas the Viral Negative Control is used to monitor the cross-contamination that may occur during the whole process. Both controls are required to validate the reaction and accurately interpret the results of the tested samples.

A valid Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control result is considered when an amplification curve is observed in the RT-qPCR assay. The Cq value obtained is dependent on the performance of the nucleic acid extraction method and the sensitivity of the RT-qPCR assay used.

A valid Viral Negative result is considered when no amplification curve is observed in the RT-qPCR assay or when an amplification curve is observed at a Cq value greater than the cut-off Cq indicated in the manufacturer's instructions of the RT-qPCR assay used.

If one or more controls are not valid (see Table 3), the sample results cannot be interpreted.

Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Result	Viral Negative Control Result	Interpretation of Controls
Positive	Negative	<b>Valid</b>
Positive	Positive	<b>Test failure *</b>
Negative	Negative	<b>Test failure **</b>
Negative	Positive	<b>Test failure ***</b>

Table 3. Interpretation of the results obtained with VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit.

\*Possible cross-contamination problem.

\*\*Possible failure of nucleic acid extraction or RT-qPCR reaction.

\*\*\*Possible cross-contamination problem, nucleic acid extraction or RT-qPCR failure or exchange of controls.

All samples that have been processed along with a Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control or/and Viral Negative Control with a test failure result, must be retested from the nucleic acid extraction.

## 10. Limitations of the test

- The Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control and the Viral Negative Control must not be substituted for the positive and negative controls provided with the RT-qPCR kits.
- Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control may contain traces of plasmid DNA.
- Changes in the nucleotide sequences of primer or probes to detect new or unknown SARS-CoV-2 variants can lead to a failure in the identification of the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control.
- Since the entire genome of SARS-CoV-2 Delta variant has been included in the design, it can rarely happen that primer or probes used do not hybridize.

- Performance of VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit depends on the efficiency of the nucleic acid extraction method and the RT-qPCR assay used by each laboratory. Each test procedure must be validated by the final user.
- Reconstitution of the Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control with a reagent different from the Viral Rehydration Buffer (supplied with the kit) must be validated by the final user.
- Test failure results may arise from several factors and their combinations, including:
  - Improper transport, storage, and/or handling of the kit.
  - Improper processing procedures (reconstitution of the positive control, nucleic acid extraction, RT-qPCR assay).
  - Degradation of the viral RNA during storage and/or processing.
  - Failure to follow instructions for use and the assay procedure.

Consult section 9 "Result interpretation" in the present document for more information.

- VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit should not be used as calibrator. The concentration of Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control is obtained by digital PCR following a specific workflow. Deviations from this workflow can lead to concentration variations.

## 11. Quality control

The expected values of VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit depends on the diagnostic procedure (nucleic acid extraction method and RT-qPCR assay), so each test procedure must be validated by the final user.

The concentration of Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control is stated in the Certificate of analysis of each batch, available upon request.

## 12. Performance characteristics

The performance characteristics of VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit have been validated using the nucleic acid extraction systems and RT-qPCR kits mentioned in section 8 of the present document. The results obtained by testing the VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit using different workflows, operators, and reagents lots show similar amplification curves, demonstrating good performance, reproducibility, and repeatability.

## ESPAÑOL

### 1. Uso previsto

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit permite monitorizar todas las etapas de PCR en tiempo real con transcripción inversa (RT-qPCR), desde la extracción de ácidos nucleicos hasta la retrotranscripción y los pasos posteriores de amplificación.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit contiene partículas virales de la variante Delta (B.1.617.2) de SARS-CoV-2 no replicativas y no infecciosas que están pensadas para ser procesadas junto con muestras respiratorias de individuos con sospecha clínica de infección respiratoria por SARS-CoV-2.

Su manipulación debe realizarse por personal de laboratorio clínico cualificado y capacitado, específicamente instruido y entrenado en técnicas moleculares y en procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

### 2. Introducción y explicación

El virus SARS-CoV-2 se detectó por primera vez en Wuhan (China) el 31 de diciembre de 2019. Durante el 2020, el virus se extendió de manera progresiva por todo el mundo y el 11 de marzo la OMS decretó el estado de pandemia.<sup>1</sup>

La aparición de mutaciones es un evento natural y esperado dentro del proceso de evolución del virus. De hecho, algunas mutaciones específicas definen los grupos genéticos virales que circulan actualmente a nivel mundial. Gracias a la secuenciación genética del patógeno, ha sido posible establecer patrones de dispersión y evolución del virus.<sup>2,3</sup>

La variante Delta (linaje B.1.617.2), notificada por primera vez en la India en diciembre de 2020, estuvo estrechamente relacionada con un gran aumento de COVID-19 en este país durante la primavera de 2022. Se ha extendido en más de 60 países debido a su capacidad de invadir el sistema inmunitario del huésped. La variante Delta tiene 23 mutaciones respecto a la primera cepa de SARS-CoV-2 identificada. Doce de estas mutaciones se encuentran en la proteína de la espícula (Spike protein) y facilitan la fusión viral.<sup>4</sup> En mayo de 2021, el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC, European Centre of Disease Control and Prevention) elevó la categoría de B.1.617.2 a Variant of Concern (VOC), después de la aparición de nueva información sobre el aumento de la transmisibilidad y repercusiones en la eficacia de la vacuna.<sup>5</sup>

La aparición de variantes que aumentan la transmisibilidad del virus, su virulencia o que escapan a la acción de los anticuerpos neutralizantes generados tras la infección natural o la vacuna, constituyen un problema de salud pública de primer orden que puede tener un impacto importante en el control de la pandemia. El diagnóstico de variantes del virus SARS-CoV-2 puede ser problemático. Entre los métodos de diagnóstico, la técnica de PCR en tiempo real ha destacado por su elevada sensibilidad, especificidad y su capacidad para procesar una gran cantidad de muestras en un tiempo reducido.<sup>6,7</sup>

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Alpha (B.1.1.7) Positive Control Kit mejora el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 al identificar resultados falsos negativos o falsos positivos que pueden ocurrir debido a un fallo durante el proceso de extracción de ácidos nucleicos o en la reacción de RT-qPCR. Diferentes factores, como bajos rendimientos de RNA tras la extracción, baja eficiencia en la retrotranscripción o contaminación cruzada, pueden conducir a resultados inválidos.

### 3. Procedimiento

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit contiene partículas virales recombinantes no replicativas y no infecciosas en formato liofilizado, creadas utilizando el sistema lentiviral<sup>8</sup>. Este sistema se basa en la capacidad de los lentivirus para empaquetar RNA exógeno en el interior de las células. Las células son co-transfectadas con dos vectores lentivirales diferentes: el vector de empaquetamiento (codifica proteínas estructurales, enzimas y proteínas reguladoras de la expresión génica de los lentivirus) y el vector de transferencia (contiene la secuencia genómica del virus). Este genoma viral se encuentra unido a enzimas lentivirales en el interior de una cápside, la cual está rodeada por una matriz. Esta, a su vez, está rodeada por una bicapa lipídica (denominada envuelta) adquirida de la membrana celular cuando la partícula recién formada sale de la célula. La partícula viral formada es no infecciosa, ya que carece de la glicoproteína de envuelta que permite que el virus se introduzca en la célula y, además, ha sido sometida a un tratamiento a elevada temperatura<sup>9</sup>. Por otra parte, es no replicativa, ya que es un virus defectuoso sin capacidad para producir nuevas partículas virales.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit contiene partículas virales de la variante Delta (B.1.617.2) de SARS-CoV-2, que contienen el genoma completo de esta variante del virus.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit es compatible con aquellos ensayos de RT-qPCR cuyas regiones diana estén contenidas en el genoma de la variante Delta (B.1.617.2) de SARS-CoV-2. La secuencia de RNA es homóloga a la cepa SARS-CoV-2/human/JPN/SARS-CoV-2, B.1.617.2 lineage, Delta variant/2021 (GenBank: OK091006.1).

### 4. Reactivos suministrados

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit incluye los materiales y reactivos detallados en la Tabla 1.

Reactivo/Material	Descripción	Color	Cantidad
Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control	Partícula viral no infecciosa liofilizada	Rojo	4/1 viales
Viral Rehydration Buffer	Solución para la reconstitución del producto liofilizado	Vial transparente con tapa verde	1 vial x 1 mL
Viral Negative Control	Control negativo	Vial transparente con tapa violeta	4/1 viales x 1 mL

Tabla 1. Reactivos y materiales proporcionados en VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit.

### 5. Material requerido y no suministrado

La siguiente lista incluye los materiales requeridos, pero no incluidos en VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit:

- Equipo de PCR en tiempo real (termociclador)
- Kit de extracción de ácidos nucleicos.
- Ensayo de PCR en tiempo real.
- Tubos libres de ribonucleasas (RNasas) y desoxirribonucleasas (DNasas).
- Vórtex.
- Micropipetas.

- Puntas con filtro.
- Guantes desechables sin polvo.

## 6. Condiciones de transporte y almacenamiento

- El transporte y almacenaje de los kits puede realizarse a 2-40°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- **Viral Rehydration Buffer** está destinado a **cuatro usos**, por lo que es recomendable realizar cuatro alícuotas (ver apartado 8 "Procedimiento del test") y almacenarlas a 2-40°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Cada vial de **Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control** es de **un único uso**. Una vez reconstituido el Control Positivo (ver apartado 8 "Procedimiento del test") debe ser sometido a extracción de ácidos nucleicos y RT-qPCR. Si el vial reconstituido no puede ser procesado inmediatamente después de la rehidratación, se recomienda almacenarlo a 4°C o 25°C si va a ser utilizado en las próximas 24 horas o congelarlo a -20°C o -80°C para períodos más largos (no volver a congelar).
- Cada vial de **Viral Negative Control** es de **un único uso**. Almacenar a 2-40°C hasta su utilización.
- Se recomienda alicuotar el RNA extraído de Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control para minimizar los ciclos de congelación-descongelación. Se ha validado la estabilidad del RNA tras 10 ciclos de congelación-descongelación tanto a -20°C como a -80°C.

## 7. Precauciones para el usuario

- El producto está destinado para ser utilizado por personal de laboratorio clínico cualificado y capacitado, instruido y entrenado específicamente en técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro* (incluyendo formación en manejo de equipos de PCR en tiempo real (termociclador) y kits de extracción de ácidos nucleicos).
- No usar el kit después de la fecha de caducidad.
- No utilizar los reactivos si los sobres que protegen los tubos están abiertos o dañados en el momento que se reciben.
- No utilizar los reactivos si el material desecante que se incluye en cada sobre de aluminio no está o está dañado.
- No retirar el material desecante de los sobres de aluminio una vez abiertos.
- No mezclar reactivos de diferentes sobres y/o kits y/o lotes y/u otro proveedor.
- Proteger Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control de la humedad. Una exposición prolongada a la humedad puede afectar al rendimiento del producto.
- Un aspecto de Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control en formato estabilizado, que normalmente se encuentra en el fondo del tubo, diferente al habitual (sin forma cónica, no homogénea, de menor/mayor tamaño y/o color diferente al blanquecino) no altera la funcionalidad del Control Positivo.
- Diseñar un flujo de trabajo unidireccional. Se debe comenzar con las alícuotas de Viral Rehydration Buffer en una zona limpia, y después pasar al área de extracción, donde se rehidrata y extrae Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control junto con Viral Negative Control y las muestras con sospecha clínica de infección respiratoria por SARS-CoV-2. Por último, pasar al área de amplificación y de detección de ácidos nucleicos. No poner en contacto las muestras, equipos y reactivos utilizados en un área con la zona en la que se realizó el paso anterior.

- Evitar en todo momento la contaminación microbiológica o de RNasa/DNasa de los reactivos. Se recomienda el uso de puntas de pipetas estériles, desechables, libres de RNasa/DNasa, y de barrera para aerosoles o de desplazamiento positivo.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio. Usar ropa protectora, guantes de uso desechables, gafas y mascarilla. No comer, beber, fumar o aplicarse productos cosméticos en el área de trabajo. Una vez terminada la prueba, lavarse las manos.
- Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control y Viral Negative Control deben ser tratados como las muestras clínicas y deben seguir el mismo proceso. Las muestras deben ser tratadas como potencialmente infecciosas y/o biopeligrosas, así como los reactivos que han estado en contacto con las muestras, y deben ser gestionadas según la legislación nacional sobre residuos sanitarios. Tome las precauciones necesarias durante la recogida, almacenamiento, tratamiento y eliminación de muestras.
- Las partículas virales que constituyen Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control son no replicativas, porque no son capaces de producir nuevas partículas virales, y no infecciosas porque carecen de la glicoproteína de envuelta y, además, han sido sometidas a un tratamiento a elevada temperatura. Las partículas virales confieren resistencia a puromicina, por lo que las células no infectadas son naturalmente sensibles a este antibiótico, mientras que las células infectadas son resistentes. La no infectividad del virus ha sido demostrada por la ausencia de colonias resistentes a puromicina después de la infección con Viral SARS-CoV-2 Alpha (B.1.1.7) Positive Control.
- Las muestras y reactivos deben manipularse en una cabina de seguridad biológica. Utilice equipos de protección personal (EPP) de acuerdo con las directrices actuales para el manejo de muestras potencialmente infecciosas. Deseche los desechos de acuerdo con las regulaciones locales, estatales y federales.
- Se recomienda la descontaminación periódica de los equipos usados habitualmente, especialmente micropipetas, y de las superficies de trabajo.
- De conformidad con el Reglamento (CE) nº 1907/2006 (REACH), VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit no requiere ficha de datos de seguridad debido a que se clasifica como no peligroso para la salud y el medio ambiente por no contener sustancias y/o mezclas que reúnan los criterios de clasificación de peligrosidad dispuestos en el Reglamento (CE) nº 1272/2008 (CLP) o que se encuentren en una concentración superior al valor establecido en dicho reglamento para su declaración.
- Consulte el manual de referencia de cada kit de extracción de ácidos nucleicos, sistema de extracción automatizado, kit RT-qPCR o equipo de PCR en tiempo real para advertencias, precauciones y procedimientos adicionales.

## 8. Procedimiento del test

### 8.1 Reconstitución del control positivo

Viral Rehydration Buffer está destinado a cuatro usos, por lo que es recomendable realizar **cuatro alícuotas (240 µl/alícuota)** en tubos libres de RNasa/DNasa) para evitar la contaminación entre usos. Este paso debe realizarse en una zona limpia separada del área de extracción y antes de manipular Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control. Las alícuotas pueden almacenarse a 2-40°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Reconstituir Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control liofilizado (vial rojo) añadiendo **220 µl** de **Viral Rehydration Buffer** (vial transparente con tapa verde previamente alícuotado) y mezclar con ayuda de un vórtex. Se recomienda llevar a cabo este paso en el área de extracción y procesarlo inmediatamente junto con Viral Negative

Control (vial transparente con tapa violeta) y las muestras clínicas. Si el vial reconstituido no puede ser procesado inmediatamente después de la rehidratación, ver apartado 6 "Condiciones de transporte y almacenamiento".

En el caso de que Viral Rehydration Buffer (suministrado en el kit) sea sustituido por otro tampón de rehidratación, este debe ser validado por el usuario final.

## 8.2 Extracción de Ácidos Nucleicos

Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control y Viral Negative Control deben someterse al mismo proceso de extracción de ácidos nucleicos que las muestras clínicas. Cualquier sistema manual o automático optimizado para la extracción de ácidos nucleicos en muestras clínicas humanas puede ser utilizado, siguiendo las instrucciones del fabricante o el protocolo interno.

Los kits de extracción de ácidos nucleicos disponibles comercialmente, incluidos en la tabla 2, han sido validados con VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit.

Kits de extracción de ácidos nucleicos	Equipos
MagDEA® Dx SV (Precision System Science Co.)	MagLEAD® 12gC Instrument
QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen)	N/A
Invisorb® Spin Universal Kit (Invitek)	N/A
Maxwell® RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit (Promega)	Maxwell® RSC Instrument
MagMAX™ Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific)	KingFisher Flex System
MagCore® Viral Nucleic Acid Extraction Kit (RBC Bioscience)	MagCore®HF16 automated Nucleic Acid Extractor System
DNA/RNA Extraction Kit (Nanjing Vazyme Medical Technology Co.)	Vazyme VNP-32YL

Tabla 2. Kits de extracción de ácidos nucleicos compatibles con VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control.

## 8.3 PCR en tiempo real

El RNA obtenido en el proceso de extracción de ácidos nucleicos puede ser amplificado utilizando cualquier protocolo de RT-qPCR cuyas dianas estén incluidas en el genoma de la variante Delta de SARS-CoV-2. Se deben seguir las instrucciones del fabricante del test RT-qPCR o el protocolo interno.

Estos controles no deben sustituir a los controles positivo y negativos proporcionados con los kits RT-qPCR.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit también ha sido validado con los siguientes kits RT-qPCR comerciales, siguiendo las instrucciones del fabricante.

- VIASURE SARS-CoV-2 Variant 1 Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE Flu A, Flu B & SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2, Flu & RSV Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 S gene Real Time PCR Detection Kit (S gene).
- VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit (ORF1ab and N genes).
- VIASURE SARS-CoV-2 (N1 + N2) Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 Triplex (ORF1ab, E & N genes) Real Time PCR Detection Kit.

- VIASURE SARS-CoV-2 del 69/70, ORF1ab & N genes Real Time PCR Detection Kit.
- VIASURE SARS-CoV-2 (HV 69/70 del, L452R, ORF1ab & N gene) Real Time PCR Detection Kit.

VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit debe seguir el mismo procedimiento de diagnóstico que las muestras con sospecha clínica de infección respiratoria por SARS-CoV-2. Si la extracción de los ácidos nucleicos o la reacción de RT-qPCR se realizan en condiciones diferentes de las descritas anteriormente, el procedimiento debe ser validado por el usuario final.

## 9. Interpretación de resultados

Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control y Viral Negative Control deben ser incluidos en cada extracción de ácidos nucleicos y en cada reacción de RT-qPCR. Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control se utiliza para monitorizar el rendimiento del proceso, mientras que Viral Negative Control se utiliza para detectar posibles problemas de contaminación cruzada que puedan tener lugar durante la extracción de RNA y/o durante la preparación de la reacción RT-qPCR. Se requieren ambos controles para validar la reacción e interpretar correctamente los resultados de las muestras analizadas.

Se considera un resultado válido de Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control cuando se observa una curva de amplificación en el ensayo de RT-qPCR. El valor de Cq obtenido es dependiente del rendimiento del método de extracción de ácidos nucleicos y de la sensibilidad del ensayo de RT-qPCR utilizado.

Se considera un resultado válido de Viral Negative Control cuando no se observa curva de amplificación en el ensayo de RT-qPCR o cuando se observa curva de amplificación en un valor de Cq superior al Cq de corte indicado en las instrucciones del fabricante del ensayo de RT-qPCR utilizado.

Si uno o más controles no son válidos (ver Tabla 3), los resultados de la muestra no pueden ser interpretados.

Resultado Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control	Resultado Viral Negative Control	Interpretación de resultados
Positivo	Negativo	Válido
Positivo	Positivo	Test fallido *
Negativo	Negativo	Test fallido **
Negativo	Positivo	Test fallido ***

Tabla 3. Interpretación de los posibles resultados del VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit.

\*Posible problema de contaminación cruzada.

\*\*Posible fallo en la extracción de ácidos nucleicos o en la reacción de RT-qPCR.

\*\*\*Posible problema de contaminación cruzada, fallo en la extracción de ácidos nucleicos o en la reacción de RT-qPCR o intercambio de controles.

Todas las muestras que han sido procesadas junto con Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control y/o Viral Negative Control cuyo resultado haya sido fallido, deben volver a procesarse realizando una nueva extracción de ácidos nucleicos.

## 10. Limitaciones del test

- Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control y Viral Negative Control no deben sustituir a los controles positivos y negativos proporcionados por los kits RT-qPCR.



- Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control puede contener trazas de DNA plasmídico.
- Cambios en la secuencia de los cebadores o sondas para detectar nuevas variantes de SARS-CoV-2 pueden conducir a un fallo en la identificación de Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control.
- Dado que se ha incluido el genoma completo de la variante Delta de SARS-CoV-2 en el diseño, rara vez puede suceder que los cebadores o sondas utilizadas no hibriden.
- El rendimiento de VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit depende de la eficiencia del método de extracción de ácidos nucleicos y del ensayo de RT-qPCR utilizado por cada laboratorio. Cada procedimiento debe ser validado por el usuario final.
- La reconstitución de Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control con un reactivo diferente al tampón de rehidratación suministrado en VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit debe ser validado por el usuario final.
- Varios factores y sus combinaciones pueden dar lugar a resultados de test fallido, incluyendo:
  - Métodos inadecuados de transporte, almacenamiento y/o manipulación del kit.
  - Procedimientos de procesamiento incorrectos (reconstitución del control positivo, extracción de ácidos nucleicos, RT-qPCR).
  - Degradación del RNA viral durante el almacenamiento y/o procesamiento.
  - No seguir las instrucciones de uso y el procedimiento de ensayo.

Consultar la sección 9 "Interpretación de resultados" del presente documento para más información.

- VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit no debe ser utilizado como calibrador. La concentración de Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control se ha obtenido por PCR digital siguiendo un procedimiento específico. Variaciones en este procedimiento pueden conducir a valores de concentración diferentes.

## 11. Control de calidad

Los valores esperados de VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit dependen del procedimiento de diagnóstico utilizado (método de extracción de ácidos nucleicos y ensayo RT-qPCR), por lo que cada procedimiento debe ser validado por el usuario final.

La concentración de cada lote de Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control se indica en el Certificado de Análisis, disponible bajo petición.

## 12. Características del test











Las características de funcionamiento de VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit se han validado utilizando los sistemas de extracción y los kits RT-qPCR mencionados en la sección 8 del presente documento.

Se han obtenido curvas de amplificación similares tras analizar VIASURE Viral SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Positive Control Kit utilizando diferentes flujos de trabajo, operadores y lotes de reactivos, demostrando un buen rendimiento, reproducibilidad y repetibilidad.

## Bibliography/Bibliografía

1. N, Z. *et al.* A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* **382**, 727–733 (2020).
2. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). Emerging SARS-CoV-2 Variants | CDC. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/scientific-brief-emerging-variants.html>.
3. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html>.
4. Shiehzadegan, S., Alaghemand, N., Fox, M. & Venketaraman, V. Analysis of the Delta Variant B.1.617.2 COVID-19. *Clin. Pract.* 2021, Vol. 11, Pages 778-784 **11**, 778–784 (2021).
5. Threat Assessment Brief: Emergence of SARS-CoV-2 B.1.617 variants in India and situation in the EU/EEA | ECDC |. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/threat-assessment-emergence-sars-cov-2-b1617-variants>.
6. K, W. *et al.* mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants. *bioRxiv Prepr. Serv. Biol.* (2021) doi:10.1101/2021.01.25.427948.
7. Y, W. *et al.* Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. *Elife* **9**, 1 (2020).
8. T, S., MA, B. & Y, I. Lentiviral vectors: basic to translational. *Biochem. J.* **443**, 603–618 (2012).
9. F, K., L, S., S, C., L, K. & HM, B. Efficient inactivation of pseudotyped HIV-based lentiviral vectors and infectious HIV. *J. Virol. Methods* **276**, (2020).

## Symbols for IVD components and reagents/Símbolos para reactivos y productos para diagnóstico in vitro

 In vitro diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 Batch code Número de lote
 Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	 Unique Device Identification Identificación única de dispositivo	 Catalogue number Número de referencia

## Trademarks

Modification rights reserved. All rights reserved. © CerTest Biotec, S.L.

All other trademarks that may appear in this package insert are the property of their respective owners.

<b>Change Control / Control de Cambios</b>		
<b>Version No. / Versión nº</b>	<b>Changes / Cambios</b>	<b>Date / Fecha</b>
00	Original Version / Versión Original	01/04/22

Table A 2. Control change table/ Tabla de control de cambios.

Revision: 1<sup>st</sup> April 2022

# VIASURE



**CerTest Biotec, S.L.**

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1  
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)

Tel. (+34) 976 520 354

Fax (+34) 976 106 268

certest@certest.es | viasure@certest.es

[www.certest.es](http://www.certest.es)

*One step ahead*



F-566 rev01