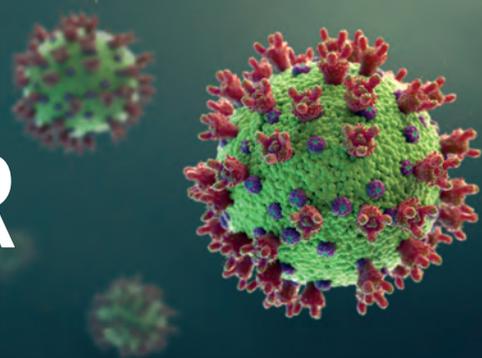


qCOVID-19 RT-qPCR



Descripción y uso previsto

La prueba qCOVID-19 RT-qPCR de qGenomics está basada en el método molecular de RT-qPCR en tiempo real. Está destinado a la detección cualitativa de la presencia de ARN del virus causante del síndrome respiratorio agudo severo del coronavirus 2 (SARS-CoV-2 o nCoV-2019) responsable de la pandemia de la enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19). La detección se realiza en muestras biológicas obtenidas de las vías respiratorias de individuos sospechosos de padecer la COVID-19. El ARN del SARS-CoV-2 generalmente es detectable en las vías respiratorias durante la fase aguda de la infección.

Un resultado positivo indica la presencia de ARN del SARS-CoV-2, no obstante es necesario la correlación con el historial del paciente y otra información diagnóstica para determinar el estado de infección del paciente. Un resultado positivo no descarta una infección bacteriana o una coinfección con otros virus. El patógeno detectado puede no ser la causa definitiva de la enfermedad.

Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por SARS-CoV-2 por lo que no debe usarse como única evidencia para el diagnóstico, tratamiento u otras decisiones relativas al manejo del paciente.

En virtud de la disposición ministerial publicada en el BOE de 14 de abril de 2020, la indicación para la realización de pruebas diagnósticas para la detección de la COVID-19 deberá ser prescrita por un facultativo de acuerdo con las directrices, instrucciones y criterios acordados al efecto por la autoridad sanitaria competente [1]. Asimismo, el SARS-CoV-2, es un microorganismo de declaración microbiológica obligatoria en el marco del Sistema de Notificación Microbiológica de Catalunya (Decreto 203/2015). Dicha notificación se realiza a la Subdirección de Vigilancia y Respuesta a Emergencias de Salud Pública del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya

Metodología

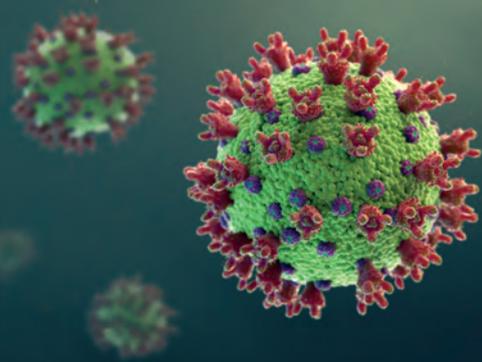
La prueba qCOVID-19 RT-qPCR se ha desarrollado siguiendo los procedimientos e instrucciones de uso puestos a disposición de los laboratorios por el **Center for Disease Control and Prevention de los EEUU** (CDC-006-00019, Revisión: 03) para un panel de diagnóstico mediante RT-qPCR en tiempo real para el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 [2].

El ensayo se compone de dos pasos principales: 1) extracción de los ácidos nucleicos de muestras de pacientes, y 2) transcripción reversa y amplificación por PCR simultánea con cebadores específicos y detección en tiempo real con sondas fluorescentes específicas del virus. El ensayo se dirige a regiones de los genes de la nucleocápside del virus (N1 y N2) y está diseñado para la detección del SARS-CoV-2.

SARS-CoV-2



Fig.1. Organización del genoma Sars-CoV-2, open reading frame (orf) 1a/b codificando proteínas no-estructurales para la replicación, proteínas estructurales incluyendo spike (S), envelope (E), membrana (M), nucleocápside (N) y proteínas accesorias (gris) como orf 3, 6, 7a, 7b, 8 and 9b.



La retrotranscripción y amplificación se llevan a cabo en un único paso (single-step RT-qPCR) utilizando el reactivo ThermoFisher Scientific TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix. Para garantizar la ausencia de inhibición de PCR, y la presencia de RNA, se incluye en cada análisis como control positivo interno la detección del gen RP humano. Esto permite reducir la tasa de falsos negativos por errores de manipulación y durante la etapa analítica.

Especificaciones técnicas

Las secuencias de cebadores y sondas utilizadas son las recomendadas en por el CDC [1]. El análisis in silico de las mismas demuestra que no existen homologías significativas (superiores al 80%) ni con el genoma humano, ni con ninguno de los miles de genomas de otros coronavirus o microflora respiratoria humana, lo que garantiza una reactividad cruzada nula de los ensayos para detectar el nCoV-2019. Asimismo, este análisis reveló un porcentaje de identidad del 100% en las búsquedas sobre las secuencias alternativas de las distintas cepas de SARS-CoV-2 disponibles públicamente. Esto garantiza que las combinaciones de sondas y oligonucleótidos utilizadas en el ensayo qCOVID-19 RT-qPCR, permitirán la detección segura de cualquiera de las cepas conocidas [2].

La validación técnica del ensayo en el laboratorio de qGenomics ha demostrado que es capaz de detectar entre 1 y 4.5 copias de las regiones N1 y N2 del virus SARS-CoV-2 por μL de medio de transporte viral [2]; lo que equivale a menos de 7.5 copias de virus por μL en la reacción de RT-qPCR.

Los ensayos de validación con muestras clínicas resultaron en una sensibilidad y especificidad del 100%. En comparación con muestras diagnosticadas de manera independiente se observó una concordancia positiva del 100% y una concordancia negativa también del 100%.

Recomendaciones y precauciones

La extracción, el almacenamiento y el transporte inapropiado de la muestra pueden dar lugar a resultados falsos de la prueba. Formación adecuada en la extracción de muestras es altamente recomendable debido a la importancia de la calidad de la muestra.

Todas las muestras de pacientes deben ser consideradas potencialmente infecciosas y manejadas en consecuencia, siguiendo las pautas y recomendaciones internacionales, nacionales y locales de bioseguridad para el manejo y procesamiento de muestras asociadas con 2019-nCoV.

Para más información puede consultar la página web qcovidtest.com o ponerse en contacto por correo electrónico a info@qcovidtest.com o llamando al +34 932.301.270.

1. España. Orden SND/344/2020, de 13 de abril, por la que se establecen medidas excepcionales para el refuerzo del Sistema Nacional de Salud y la contención de la crisis sanitaria ocasionada por el COVID-19. Boletín Oficial del Estado, 14 de abril 2020, núm. 104, pp. 28956 a 28958.

2. Centers for Disease Control and Prevention. CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel. <https://www.fda.gov/media/134922/download>.