

Kit SARS COV2 E NAT

Una nueva cepa de coronavirus, llamada **SARS-CoV-2**, se detectó por primera vez a fines del 2019 en Wuhan (China) transformándose en poco tiempo en una pandemia.

La transmisión del **SARS-CoV-2** ocurre principalmente durante las actividades sociales normales, a través de la inhalación de microgotas (*droplets*) que pueden asentarse también en objetos o en superficies e indirectamente transmitir el virus mediante el contacto de las manos con la boca, con la nariz y con los ojos. Los datos de laboratorio muestran que el virus tiene una supervivencia diferente según el tipo de superficie. En condiciones controladas, se ha verificado que el virus sobrevive durante períodos de menos de 3 horas en papel, hasta un día en madera y telas, dos días en vidrio y durante períodos más largos (3/4 días) en superficies lisas como acero y plástico, persistiendo hasta 7 días en el tejido externo de las máscarillas quirúrgicas*.

PRINCIPIOS DEL MÉTODO

El kit incluye todos los reactivos necesarios para la extracción rápida del ARN en muestras ambientales de superficies, amplificación de genes con tecnología LAMP** (Loop-mediated isothermal amplification), visualización e interpretación automática del resultado mediante sistema dedicado ICGENE *** mini (Enbiotech Cat No. EBT 801) o ICGENE Plus (Enbiotech Cat 804).

El kit sigue las indicaciones publicadas por la OMS y los CDC, utiliza dos de los genes *target* indicados por las pautas y ha sido desarrollado utilizando estándares positivos aprobados por la FDA.

COMPOSICIÓN DEL KIT

Tampón de extracción	Tubos pre-alicuotados conteniendo el tampón de extracción
Primer mix	Primer liofilizados específicos para SARS-CoV-2
LAMP mix	Tubo con tapón verde que contiene la enzima y un tampón de almacenamiento
Aceite mineral	Tubo con tapón azul que contiene aceite mineral
Control positivo	Tubo con tapón rojo que contiene plásmidos estables de las secuencias target de SARS-CoV2 . Se puede usar para dos propósitos diferentes. a) control de calidad del kit: al primer uso o si se cambia de operador, insertar un control positivo para verificar la funcionalidad del test y que no haya sido dañado durante el transporte o almacenamiento; b) control de inhibiciones de reacción: puede usarse para verificar la inhibición por la matriz. Agregue el extracto y el control positivo a un segundo tubo que contenga una mix de primers.
Control negativo	Tubo con tapón blanco que contiene el tampón de extracción
Tarjeta SARS-Cov-2	<i>Tarjeta Contactless</i> para la identificación automática del kit que contiene las informaciones relativas al número de lote y a la fecha de caducidad, así como los parámetros de extracción y amplificación asociados con el kit.

PROCEDIMIENTO

1 – MUESTREO DE SUPERFICIES

- En una superficie de 25 cm², frotar el hisopo de rayón pre-humedecido moviéndose en dos direcciones diferentes y girando simultáneamente el bastoncillo. Evite dejar que el hisopo se seque por completo.
- Continúe con la extracción del ARN descrito en el punto 2.

2 – EXTRACCIÓN DE ARN

- Use un tubo de extracción que contenga tampón pre-alicuatado.
- Sumerja el hisopo en el tubo de extracción durante aproximadamente 10 segundos, antes de retirar el hisopo, presione la punta a lo largo de las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido.
- Deseche el hisopo.
- Incube a temperatura ambiente durante 2 min.
- Continúe con la preparación de la reacción LAMP descrita en el paso 3.

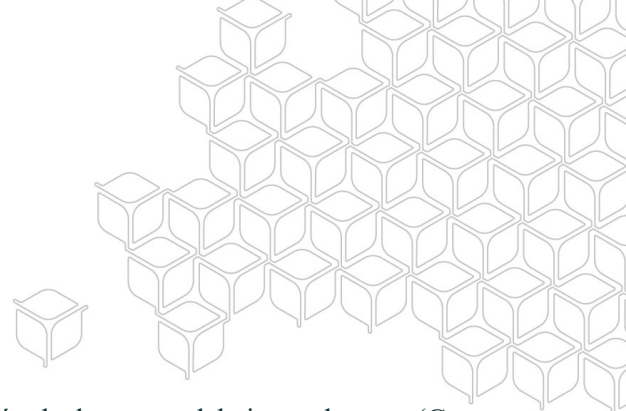
3 – PREPARACIÓN DE LA REACCIÓN DE LA LAMP

- Tome una cantidad de tubos Primer Mix igual al número de muestras a analizar.
- Agregue los reactivos de reacción y la muestra a analizar en cada tubo.
- Solubilice el sedimento verde en las tiras de Primer Mix mezclándolo con la micropipeta mientras carga la muestra y cierra los tubos.
- Inicie el programa de amplificación del instrumento ICGENE utilizando el badge del kit.
- Siga las operaciones sugeridas por el sistema para insertar los tubos.

4 - RESULTADOS

El sistema ICGENE realiza la interpretación automática de los resultados. Los datos se muestran en una tableta (incluida) asociada con el instrumento. Una curva sigmoidea indica una muestra positiva, mientras una línea recta indica una muestra negativa. En la parte izquierda de la pantalla, en correspondencia con el nombre de la muestra, será visible el símbolo "+" en caso de una muestra positiva. El sistema sincroniza los resultados con el portal ICGENE web, desde el cual es posible consultar los datos obtenidos.





SENSIBILIDAD

El kit detecta hasta **2 copias / μ L** de ARN *target*.

ESPECIFICIDAD

El kit presenta una elevada especificidad debido a la utilización de dos genes del virus a detectar (Gen S y Gen N).

La especificidad testada *in silico* no ha detectado ningún alineamiento significativo sobre los virus humanos comunes, listados a continuación.

Patógeno
HCoV-OC43
HCoV-HKU1
HCoV-229E
HCoV-NL63
SARS-CoV
MERS-CoV
Adenovirus C
Parainfluenza virus 1
Parainfluenza virus 2
Parainfluenza virus 3
Parainfluenza virus 4
Influenza A
Influenza B
Rhinovirus
Respiratory syncytial virus

La especificidad probada con los cDNAs de los coronavirus humanos más comunes, a continuación detallados, ha generado una reactividad del Gen S y del Gen N del 0%.

Patógeno
HCoV-OC43
HCoV-HKU1
HCoV-229E
HCoV-NL63
SARS-CoV
MERS-CoV

Sustancias potencialmente inhibidoras

Se han realizado pruebas para evaluar la reactividad del kit en superficies de trabajo desinfectadas siguiendo las pautas del Informe ISS COVID-19 • n. 19/2020, muestreando con hisopos de rayón y procesando posteriormente de acuerdo con el protocolo. El control positivo utilizado es el ARN viral aprobado por la FDA.

No se ha detectado ninguna inhibición por los desinfectantes enumerados en la tabla, generando una reactividad del test del 100%.

Sustancia potencialmente inhibidora
Etanol 85%
Hipoclorito de sodio 7%
Peróxido de hidrógeno 12%
Clorexidina 0,05%
Benzil-C12-18-alcildimetil cloruro + Didecildimetilamonio cloruro 0,18% + 0,27%

LIMITACIONES DEL MÉTODO Y RECOMENDACIONES

- La prueba no tiene valor clínico o diagnóstico.
- La prueba se ha desarrollado para muestras de hisopos de superficies.
- Las muestras tomadas deben analizarse lo antes posible. Si no es posible analizarlas de inmediato, las muestras pueden almacenarse a 4 °C durante un máximo de 24 horas antes de su análisis. *
- Las condiciones incorrectas de recolección, almacenamiento o transporte de los hisopos pueden dar resultados falsos negativos.
- El uso de hisopos con medios de transporte como Universal Viral Transport Medium (UTM) puede dar lugar a resultados falsos negativos.
- Almacenar el hisopo en soluciones o medios de transporte puede dar resultados falsos negativos.
- El kit debe usarse con un hisopo de rayón pre-humedecido.
- Usar solo con sistema ICGENE mini o ICGENE plus.
- Antes de realizar la prueba, use guantes y todos los dispositivos de protección necesarios para este tipo de análisis.
- La fiabilidad y la repetibilidad de los resultados dependen de un adecuado procedimiento de toma, almacenamiento, transporte y procesamiento de las muestras.
- No use el kit después de la fecha de caducidad.
- No se debe usar ningún componente del test dañado o encontrado abierto en el momento de la entrega del kit.
- No deje tubos en el dispositivo después del final de la prueba. Téalo sin abrirlo.
- Deseche los componentes de acuerdo con las normativas locales y nacionales.
- Todos los materiales incluidos en el kit son desechables. No utilizar en más de una muestra.
- Al final del día, limpie siempre el dispositivo y las superficies al rededor.
- Los resultados positivos son indicativos de la presencia de SARS-CoV-2-RNA.
- Evite la contaminación de los reactivos al retirar alícuotas de los tubos. Se recomienda el uso de puntas de pipeta desechables estériles con filtro.

* informe ISS COVID-19 no. 17/2020

** Licencias de patente WO 00/28082, WO 01/34790, WO 01/77317, WO 02/24902, WO 01/34838

*** Patente de invención industrial n. 0001425753 de 09.11.2016