



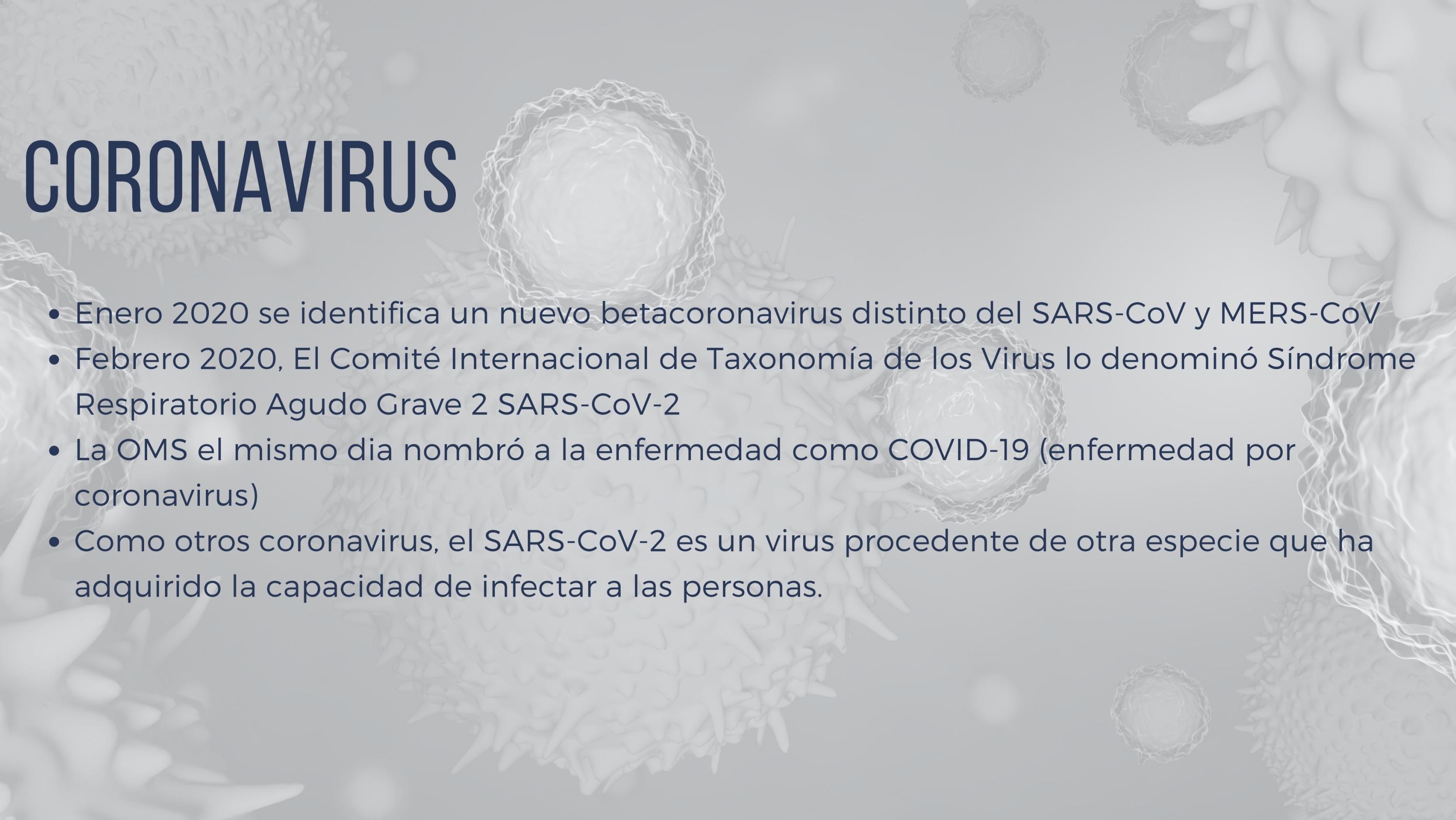
COVID-19 PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

¿Cuáles y cuándo hacerlas?

María Clara Pott Godoy, PhD
Bioquímica

Magister en Biología Molecular Médica (UBA)
Doctora de la UBA en Ciencias Biológicas
Coordinadora Area Biología Molecular del Hospital Pediátrico
"Dr. Humberto J. Notti". Provincia de Mendoza

CORONAVIRUS



- Enero 2020 se identifica un nuevo betacoronavirus distinto del SARS-CoV y MERS-CoV
- Febrero 2020, El Comité Internacional de Taxonomía de los Virus lo denominó Síndrome Respiratorio Agudo Grave 2 SARS-CoV-2
- La OMS el mismo día nombró a la enfermedad como COVID-19 (enfermedad por coronavirus)
- Como otros coronavirus, el SARS-CoV-2 es un virus procedente de otra especie que ha adquirido la capacidad de infectar a las personas.

MUESTRAS



Hisopado
Nasofaríngeo

Tracto
Respiratorio
Inferior

Esputo
Lavado broncoalveolar
Aspirado traqueal

MÉTODOS DIRECTOS

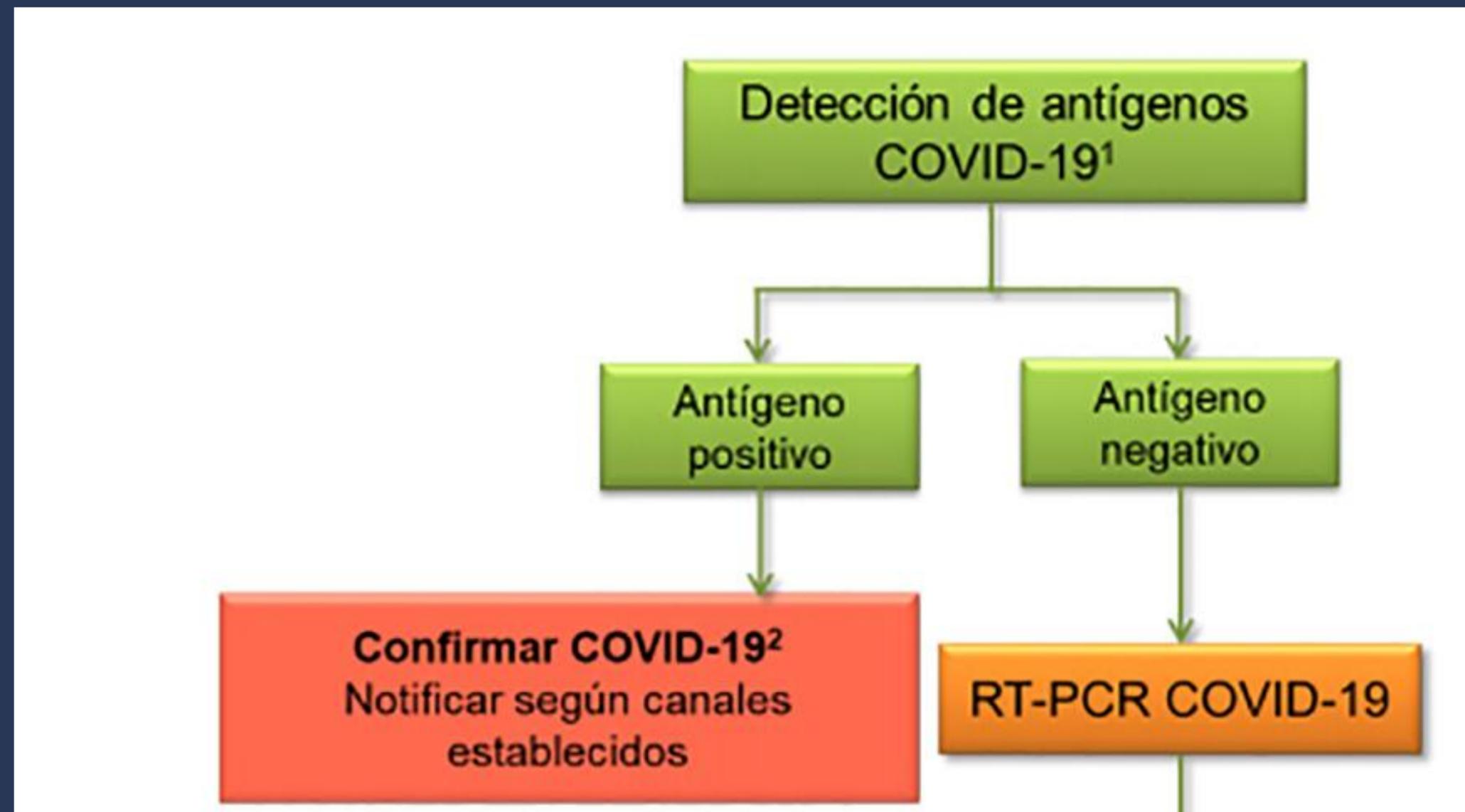
DETECCIÓN DE ANTIGENOS

- Presentan una especificidad aceptable
- Detectan Proteínas virales que se producen dentro de 1-5 días de inicio de los síntomas.
- Usados como criterio de confirmación siempre en conjunto con otros datos clínicos y epidemiológicos.



NO SE CONOCE LA
DINAMICA DE
PRODUCCION Y
EXCRECION DE
ESTAS PROTEINAS
VIRALES.

OPS 8-07-2020



Un resultado negativo NO debe ser usado como criterio para descartar un caso.

MÉTODOS DIRECTOS

DETECCIÓN DE RNA VIRAL

- Extracción RNA viral por método standard, utilizando cartuchos, columnas o perlas.
- La muestra es inactivada en la primera etapa de lisis con buffers específicos.
- Se realiza una transcripción reversa y una PCR en tiempo real en un solo paso.

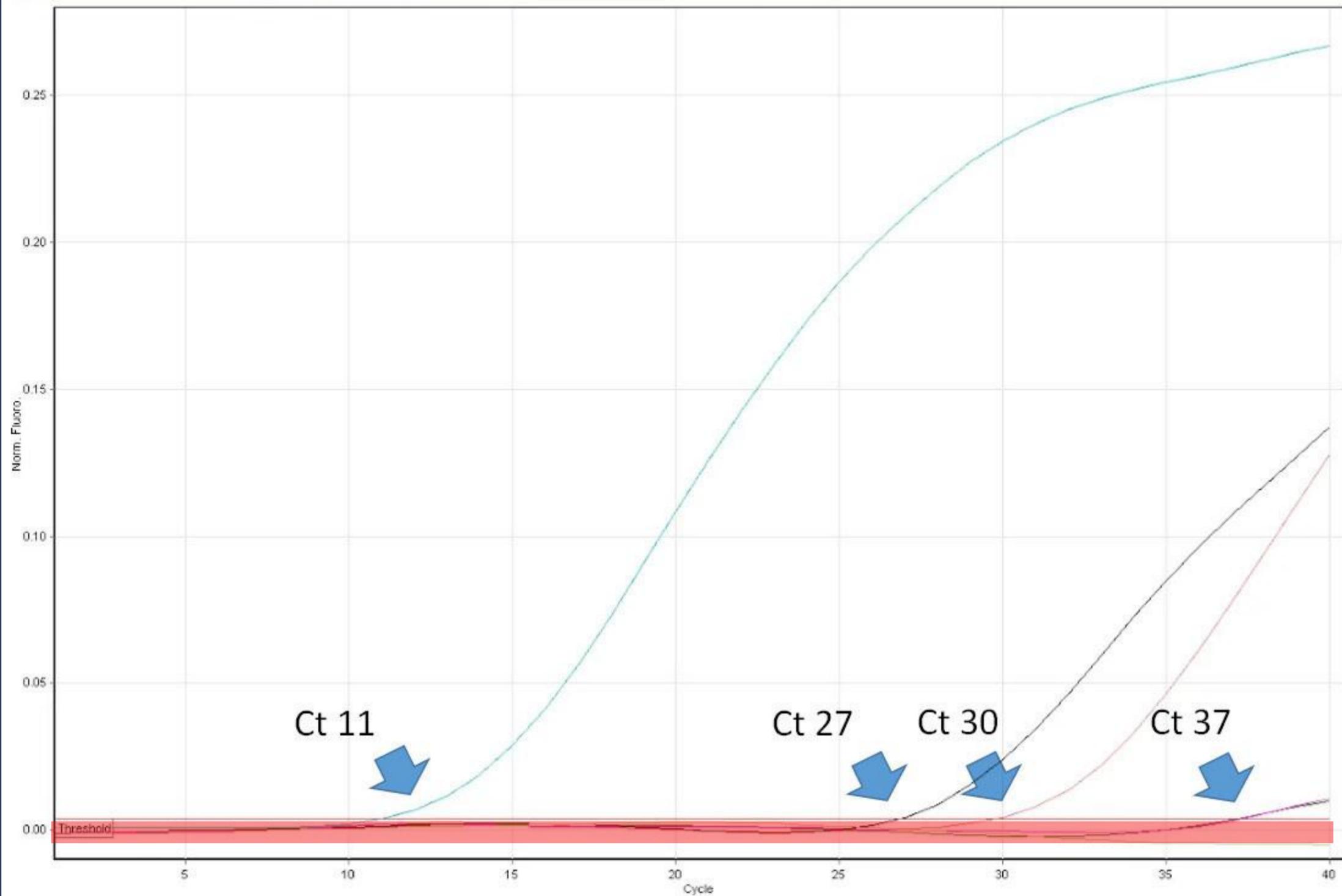


METODO DE SCREENING

- Kit comercial adquirido por el Ministerio de Salud, Desarrollo Social y Deportes de la Provincia de Mendoza.
- Incluye un control interno de amplificación (controla presencia de inhibidores, por ej: hemoglobina)
- No incluye control de integridad de RNA extraído (RNAseP)

< Detection Target Information >

Target virus	Target genes
SARS-CoV-2	<i>N</i> gene
	<i>ORF1a</i>
	PCRC



Target genes

N gene CT < 40

ORF1a CT < 40

PCRC CT < 26

PRIMER
PROTOCOLO
PUBLICADO POR LA
OMS, ELABORADO
POR EL **INSTITUTO
DE VIROLOGÍA
CHARITÉ – BERLÍN
(ALEMANIA).**

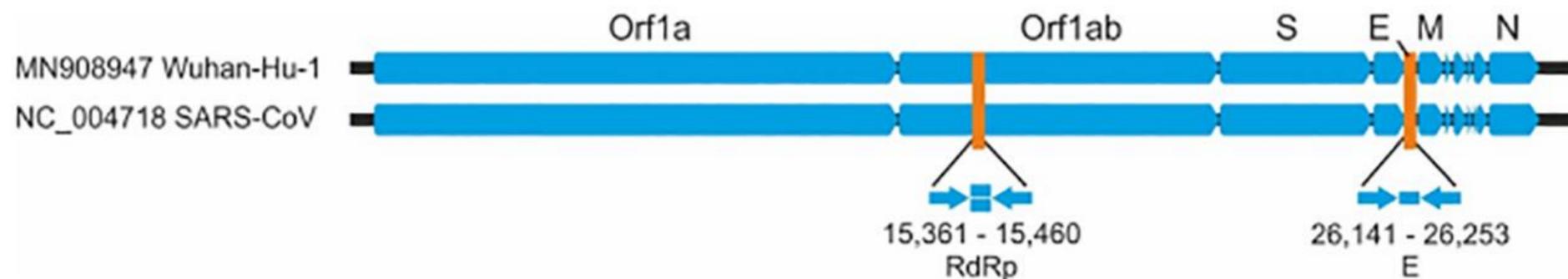


Figure 1 relative positions of amplicon targets on SARS-CoV an 2019-nCoV genome. ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase. Numbers below amplicon are genome positions according to SARS-CoV, NC_004718.

Gen E: específico para todos los virus del subgénero Sarbecovirus (es decir, el SARS-CoV-2, el virus de COVID-19 y los virus de murciélagos relacionados).

El único Sarbecovirus que circula actualmente en humanos es el virus responsable de COVID-19

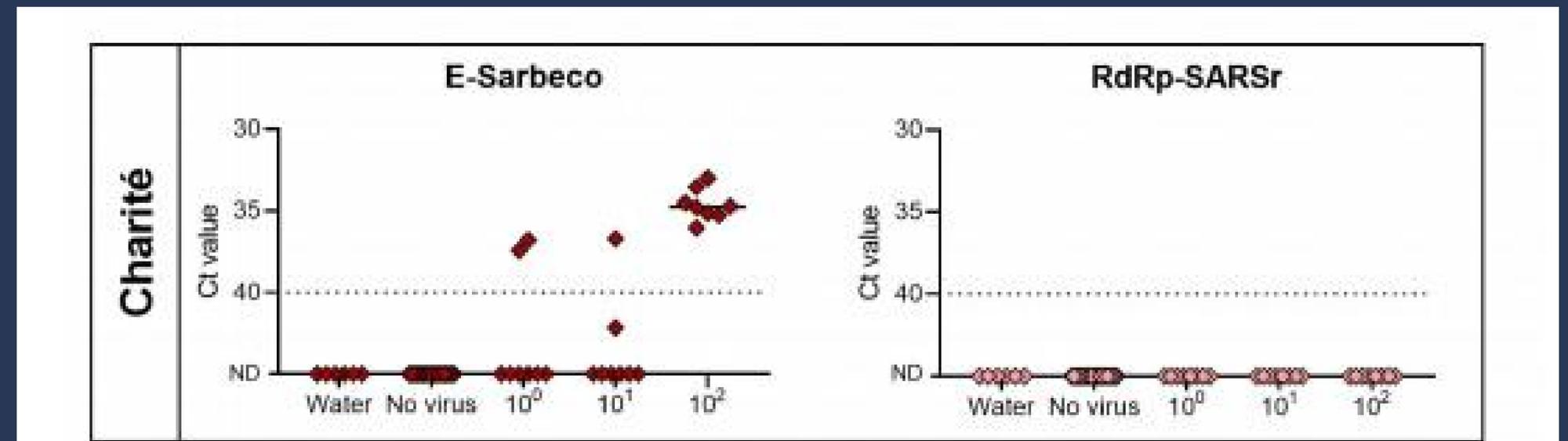
Gen RdRP: solo detecta el virus SARS-CoV-2

Limite de Sensibilidad: 5,2 copias por reacción

PRIMER
PROTOCOLO
PUBLICADO POR LA
OMS, ELABORADO
POR EL INSTITUTO
DE VIROLOGÍA
CHARITÉ – BERLÍN
(ALEMANIA).

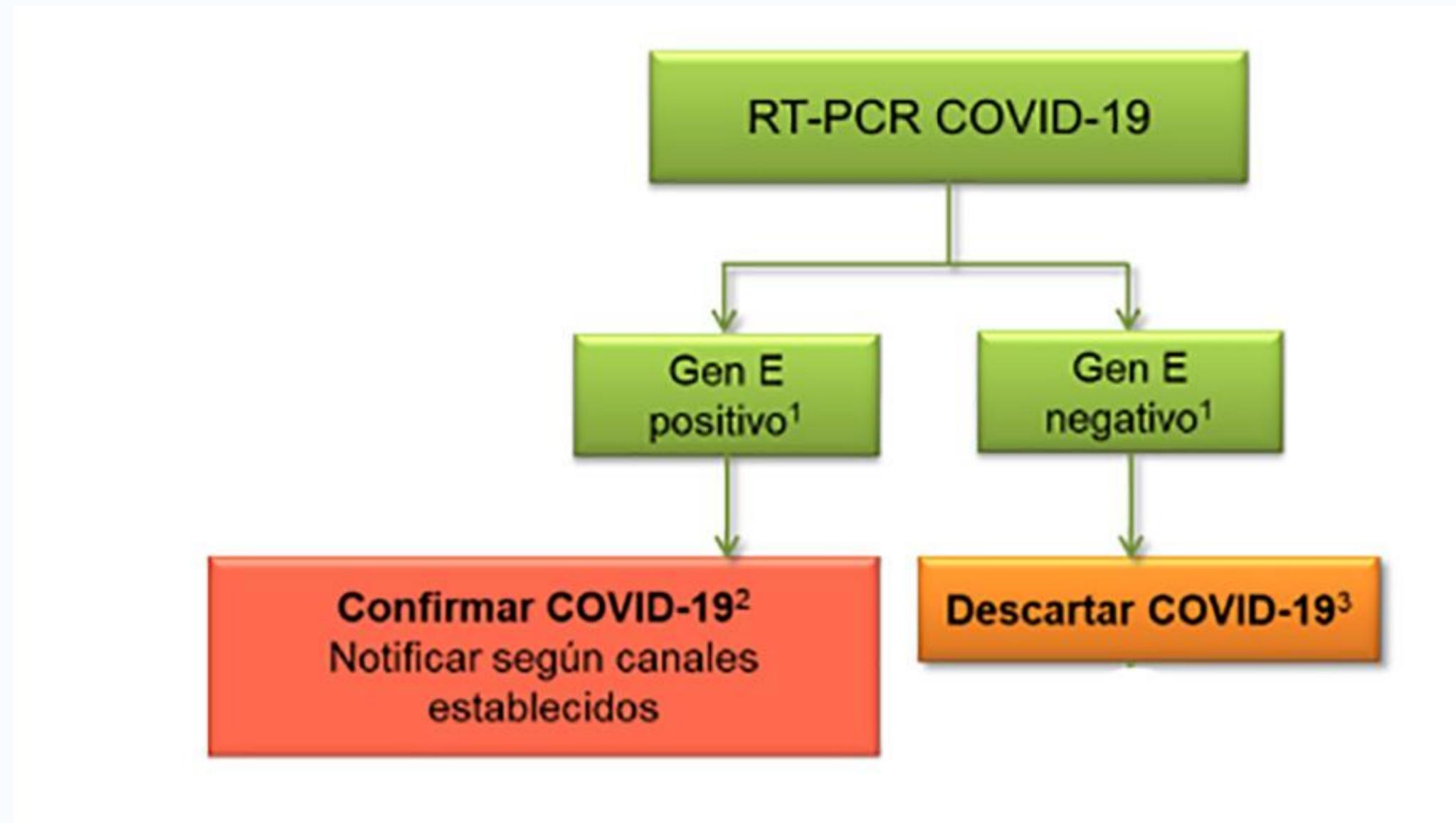
Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-COV-2 qRT-PCR primer-probe sets

Chantal B.F. Vogels^{1*}, Anderson F. Brito¹, Anne L. Wyllie¹, Joseph R. Fauver¹, Isabel M. Ott², Chaney C. Kalinich¹, Mary E. Petrone¹, Arnau Casanovas-Massana¹, M. Catherine Muenker¹, Adam J. Moore¹, Jonathan Klein³, Peiwen Lu³, Alice Lu-Culligan³, Xiaodong Jiang³, Daniel J. Kim³, Eriko Kudo³, Tianyang Mao³, Miyu Moriyama³, Ji Eun Oh³, Annsea Park³, Julio Silva³, Eric Song³, Takehiro Takahashi³, Manabu Taura³, Maria Tokuyama³, Arvind Venkataraman³, Orr-El Weizman³, Patrick Wong³, Yexin Yang³, Nagarjuna R. Cheemarla⁴, Elizabeth B. White¹, Sarah Lapidus¹, Rebecca Earnest¹, Bertie Geng⁵, Pavithra Vijayakumar⁵, Camila Odio⁶, John Fournier⁷, Santos Bermejo⁸, Shelli Farhadian⁷, Charles S. Dela Cruz⁸, Akiko Iwasaki^{3,9}, Albert I. Ko¹, Marie L. Landry^{4,7,10}, Ellen F. Foxman^{3,4}, Nathan D. Grubaugh^{1*}



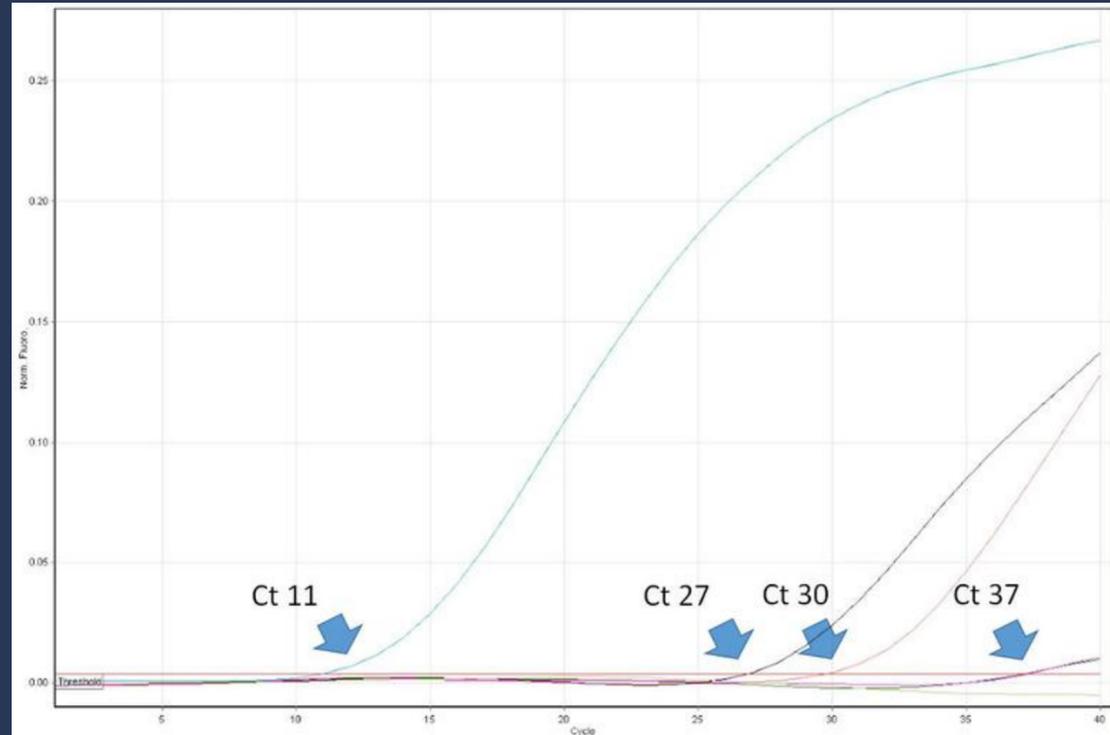
LA DETECCIÓN DE UN SOLO MARCADOR GENÉTICO ES SUFICIENTE PARA LA CONFIRMACIÓN

OPS 8-07-2020



OPS recomienda priorizar el gen E como marcador seleccionado

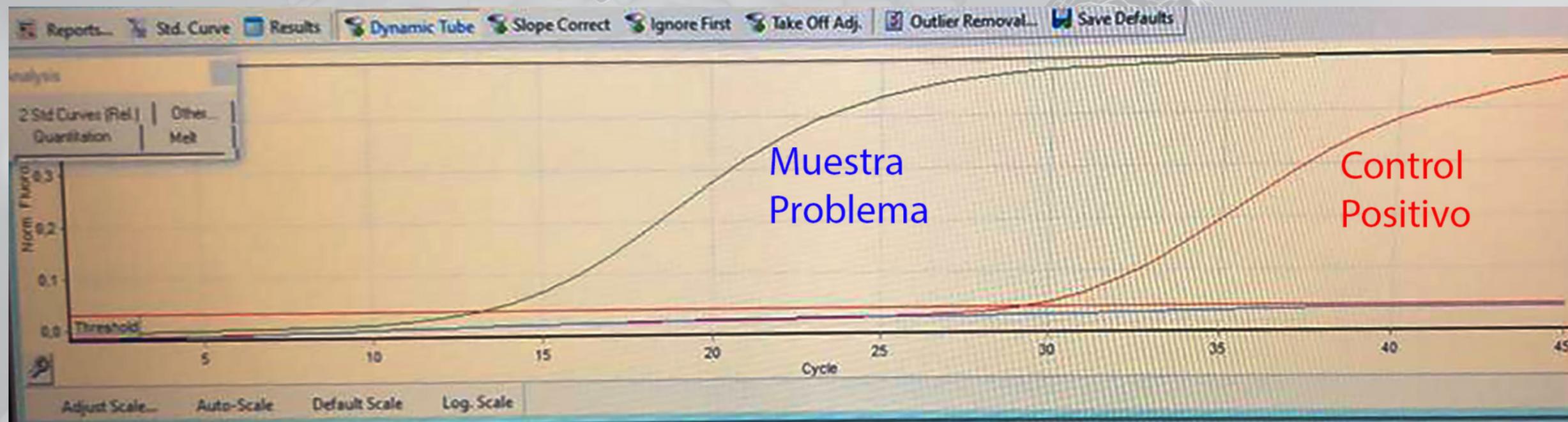
ASIGNACIÓN DE LOS RESULTADOS



- NO DETECTABLE > ó = 37 CT
- NO CONCLUYENTE 34 a 36.9 CT
Rehisopar a las 48 - 72 hs
- DETECTABLE < 34

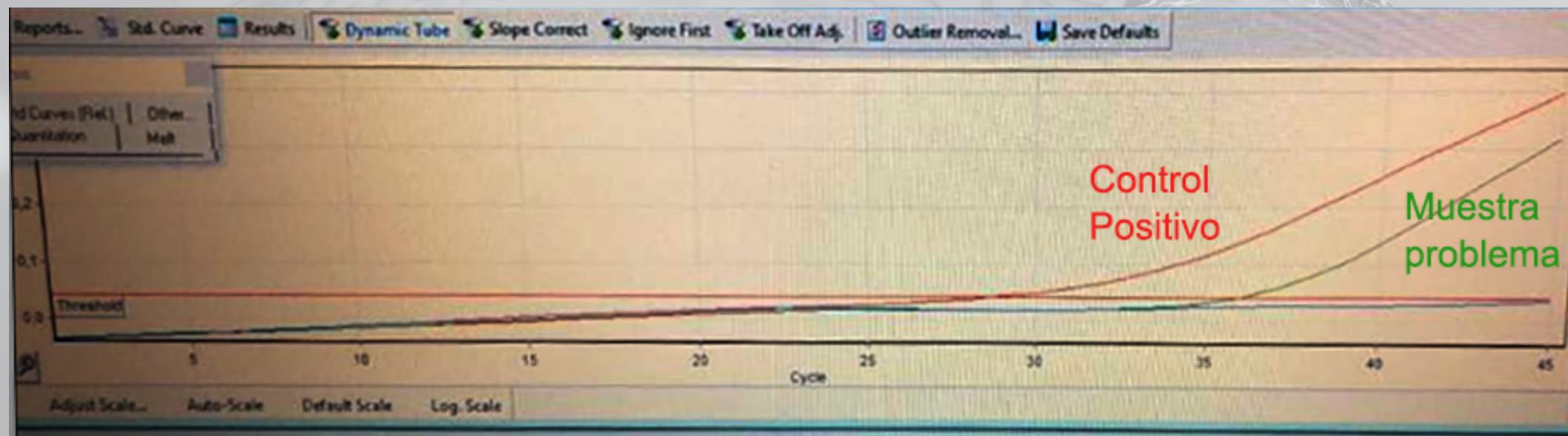


TENIENDO EN CUENTA LOS CONOCIMIENTOS APRENDIDOS, QUÉ CT LE ASIGNARÍA A LA MUESTRA PROBLEMA Y COMO LO INFORMARÍA SUPONIENDO QUE ES LA CORRIDA DEL PROTOCOLO ALEMÁN (CONFIRMATORIA)?



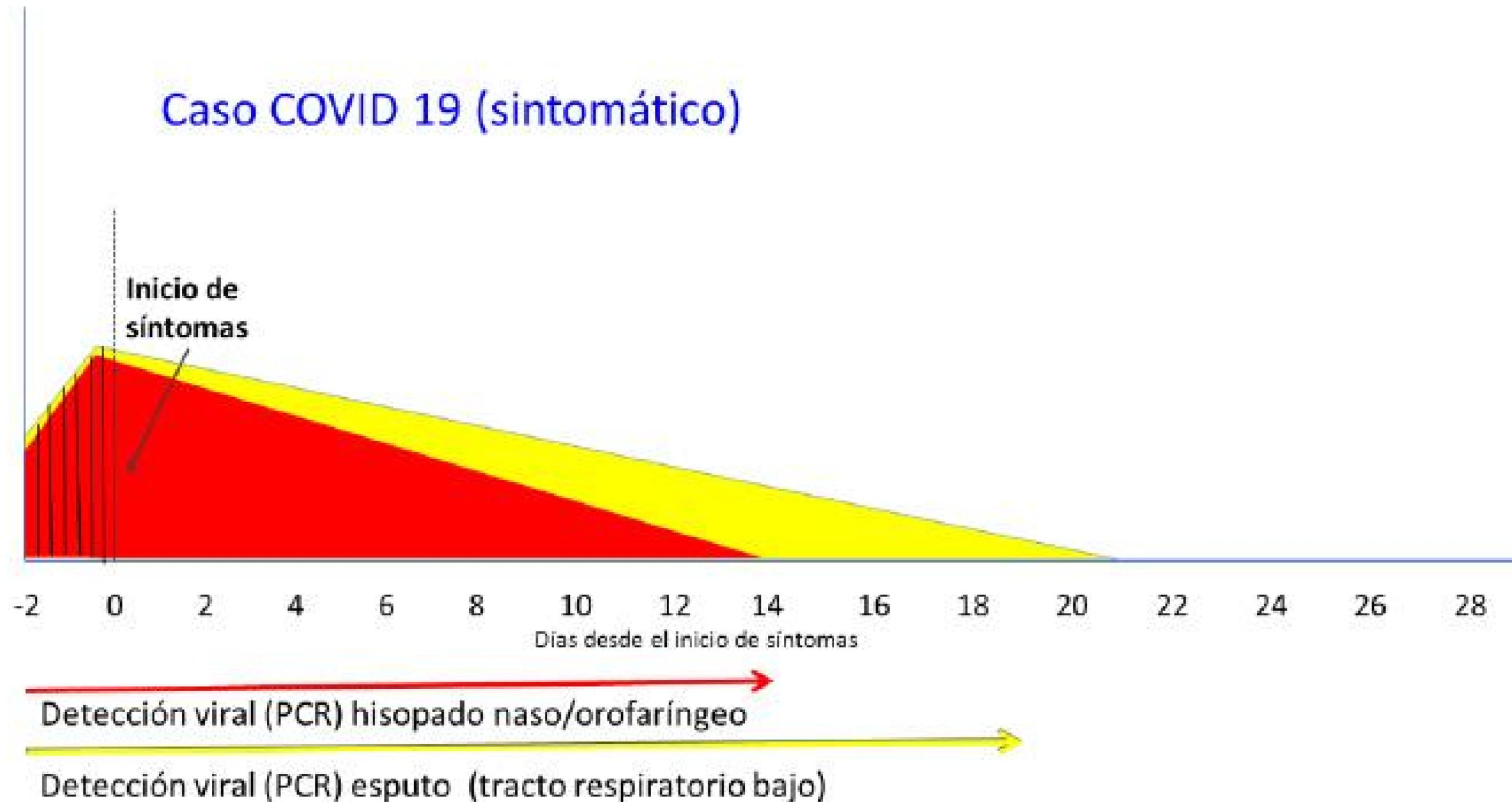
VOTE ON [LIVE.VOXVOTE.COM](https://live.voxvote.com) PIN: 96793

QUÉ RESULTADO LE ASIGNARÍA A ESTA MUESTRA PROBLEMA CONSIDERANDO QUE ES UNA CORRIDA DEL PROTOCOLO ALEMÁN (CONFIRMATORIO)? INDICARÍA ALGO EN "OBSERVACIONES" DEL INFORME AL MÉDICO?



VOTE ON [LIVE.VOXVOTE.COM](https://live.voxvote.com) PIN: 96793

DIAS PARA LA TOMA DE MUESTRA



%FALSE NEG

D1: 100%

D4: 67%

D5: 38%

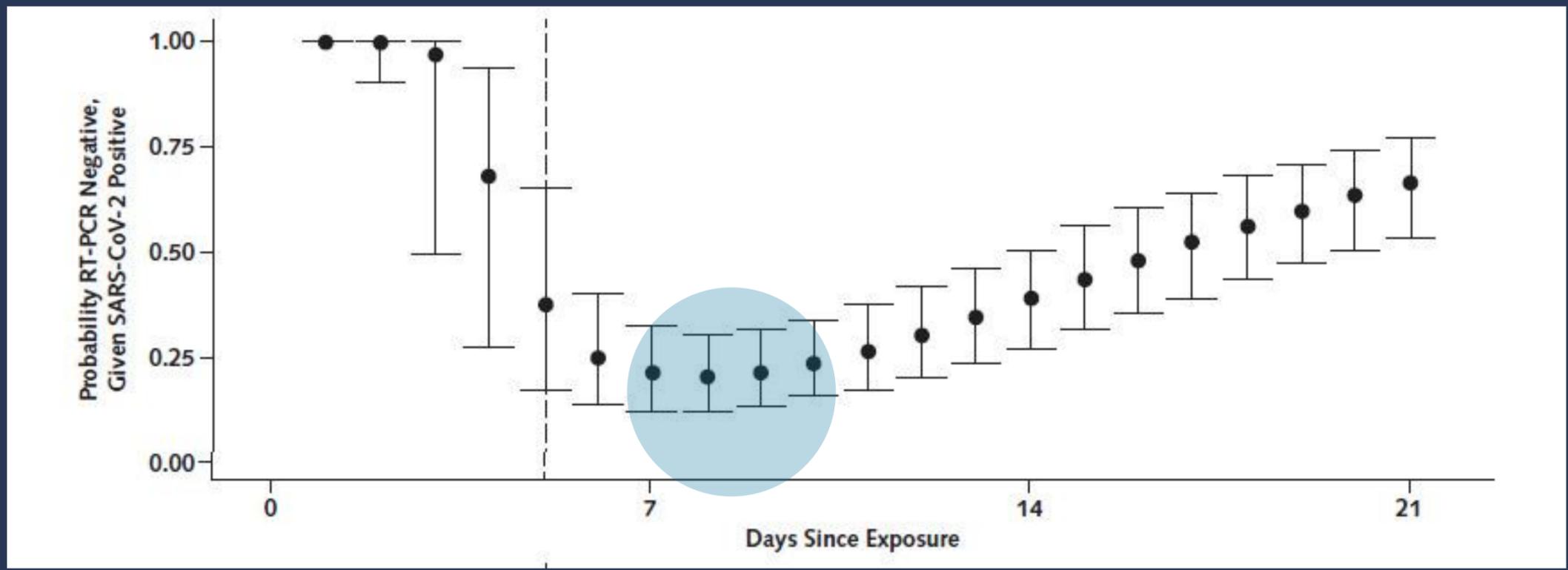
D8: 20%

D21: 66%

N=1330 HNF

Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure

Lauren M. Kucirka, MD, PhD*; Stephen A. Lauer, PhD*; Oliver Laeyendecker, PhD, MBA; Denali Boon, PhD; and Justin Lessler, PhD



El virus **PUEDE SER** detectado 48 hs antes del inicio de los síntomas hasta 12 ó 14 días (al menos 6 ó 7) en muestras del Tracto Respiratorio Superior

PUEDE SER detectado hasta 20 días (o más) en muestras del Tracto Respiratorio Inferior

¿CUAL ES EL VALOR AGREGADO DE REALIZAR UNA RT-QPCR A UN CONTACTO DE UN CASO CONFIRMADO?

- SE DEBE REALIZAR EL ESCUDAMIENTO POR 14 DIAS DESDE EL CONTACTO.
- RT-QPCR NEGATIVA NO DESCARTA CONTACTO PREVIO

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

¿QUÉ SIGNIFICA QUE LA RT-QPCR ARROJE UN RESULTADO DETECTABLE?

VOTE ON [LIVE.VOXVOTE.COM](https://live.voxvote.com) PIN: 96793

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

¿QUÉ SIGNIFICA QUE LA RT-QPCR ARROJE UN RESULTADO NO DETECTABLE?

VOTE ON [LIVE.VOXVOTE.COM](https://live.voxvote.com) PIN: 96793

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

¿POR QUÉ PUEDE DAR NO DETECTABLE LA RT-QPCR EN UN INDIVIDUO INFECTADO?

VOTE ON [LIVE.VOXVOTE.COM](https://live.voxvote.com) PIN: 96793

CONTACTOS DE CASO CONFIRMADO

UN INDIVIDUO CONSIDERADO CONTACTO ESTRECHO DE UN CASO CONFIRMADO. CUÁL ES LA RECOMENDACIÓN DE LA OPS CON RESPECTO A LA CONDUCTA A SEGUIR?

VOTE ON [LIVE.VOXVOTE.COM](https://live.voxvote.com) PIN: 96793

DESARROLLO NACIONAL

LÍMITE DE SENSIBILIDAD DEL KIT ES 12,5 COPIAS DEL GENOMA VIRAL.

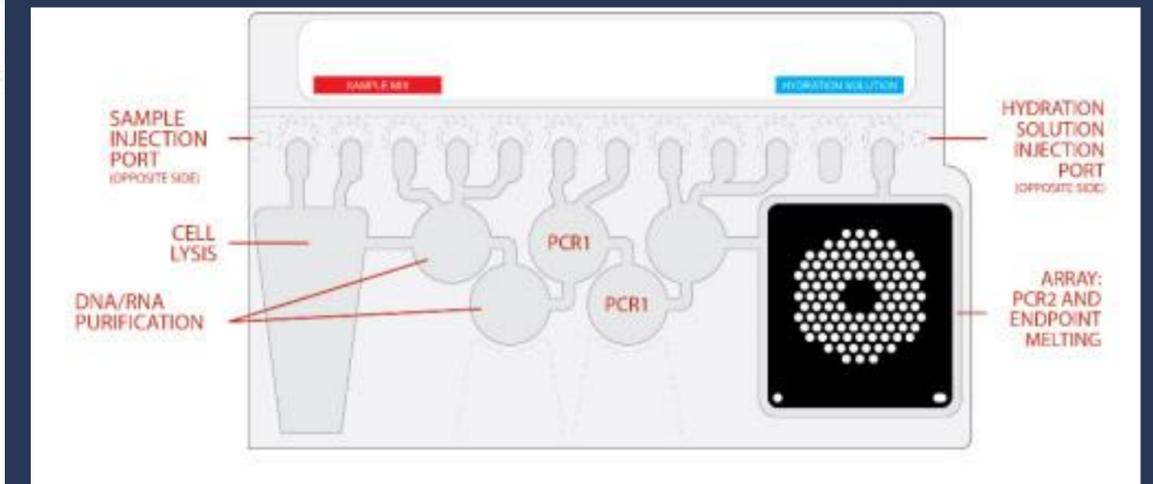




BioFire® Respiratory 2.1 (RP2.1) Panel con SARS-CoV-2

1 prueba. 22 patógenos. 45 minutos.

Viruses	Bacteria
Adenovirus	<i>Bordetella parapertussis</i>
Coronavirus 229E	<i>Bordetella pertussis</i>
Coronavirus HKU1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
Coronavirus NL63	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Coronavirus OC43	
Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)	
Human Metapneumovirus	
Human Rhinovirus/Enterovirus	
Influenza A, including subtypes H1, H3 and H1-2009	
Influenza B	
Parainfluenza Virus 1	
Parainfluenza Virus 2	
Parainfluenza Virus 3	
Parainfluenza Virus 4	
Respiratory Syncytial Virus	



LÍMITE DE
SENSIBILIDAD DEL
KIT ES 160
COPIAS/ML

CRITERIO PARA DAR DE ALTA PACIENTES

RECOMENDACIÓN OMS ENERO 2020

- Paciente clínicamente recuperado
- Tener 2 RT-QPCR negativas dentro de las 24 hs

Recomendaciones basadas en los conocimientos sobre
MERS Y SARS

Criteria for releasing COVID-19 patients from isolation

Scientific brief

17 June 2020



World Health
Organization

- Detección del genoma viral NO implica partícula viral competente y replicación viral
- Han demostrado que a los 7 - 9 días de presentación de síntomas, no se aislaron partículas virales en cultivo.
- Que el paciente NO tenga síntomas respiratorios como tos que pueda esparcir partículas infectivas al toser

Criteria for releasing COVID-19 patients from isolation

Scientific brief

17 June 2020



World Health
Organization

SINTOMÁTICOS: 10 días desde el inicio de los síntomas
+ 3 días adicionales sin síntomas (fiebre y síntomas
respiratorios)

ASINTOMÁTICOS: 10 días post RT-QPCR positiva.

CRITERIO PARA DAR DE ALTA PACIENTES

Ejemplo: si un paciente tiene síntomas por 2 días, cuando puede ser dado de alta según la recomendación de la OMS Junio 2020?

VOTE ON [LIVE.VOXVOTE.COM](https://live.voxvote.com) PIN: 96793

CRITERIO PARA DAR DE ALTA PACIENTES

Ejemplo: si un paciente tiene síntomas por 30 días, cuando puede ser dado de alta según la recomendación de la OMS Junio 2020?

VOTE ON [LIVE.VOXVOTE.COM](https://live.voxvote.com) PIN: 96793

teşekkür ederim

mulțumesc

اركش

MERCI

grazas

thank you

dankeschön

dankie

نونمم

Благодарю вас

gratias ago

谢谢

tack

gracias

kiitos

GRAZIE

ありがとう

gràcies

OBRIGADO

dankon

