

Introducción del diagnóstico de COVID19 mediante Kit RIDA GENE empleando método de lisis manual.

Tatiana Acosta, Teresa Collazo, Marisleivis García, Alejandro Esperón, Claudia Barbón, Elyen Vital, Elvia Santos, Francisco Sotomayor, Ixchel López, Mercedes Arceo, Judith Pupo, Cira Rodríguez, Lilia Marín, Lucía Fariñas, Vicky Sánchez, Adonay Martínez, Ana Vilma Nicot, Beliany Pacheco, Daniela Estévez, Ettien Delgado, Evelyn Hernández,, Jacqueline Pérez, Jorge A Naranjo, Lídice Reyes, Lissette González, Maite Martiato, Marilay Navarro, Minerva Matarán, Naybis García, Rosa Mary Colas, Sania González, Yadira Hernández, Dayamnis Cruz, Ismel Pérez.

La Habana. Año 2021.

INTRODUCCIÓN.

A principios de enero del 2019, las autoridades chinas identificaron un nuevo tipo de coronavirus (SARS-CoV-2), la enfermedad causada por este se denomina oficialmente COVID-19.

Para su diagnóstico molecular se han empleado múltiples juegos de reactivos; entre ellos sobresale, por su valor diagnóstico el Kit RIDA GENE SARS-CoV-2 RUO comercializado por la firma Alemana R-Biofarm. Este ensayo de RT-PCR multiplex en tiempo real está diseñado para la combinación de plataformas de extracción (r-biofarm y promega) y un dispositivo de PCR en tiempo real como el Rotor Gene Q empleando tubos de reacción de 0,1 mL

INTRODUCCIÓN.

En nuestro laboratorio se introdujo el empleo de este kit haciendo dos modificaciones:

- Lisis manual de las muestras biológicas en sustitución de la purificación automatizada del ARN
- Reacciones en tubos 0,2 ml.

Para su introducción, se compararon los resultados para 30 muestras (incluyendo positivas y negativas) obtenidos en nuestro laboratorio y en el laboratorio del IPK, laboratorio de referencia para este diagnóstico que emplea extracción y purificación del ARN automatizada.

Se procesaron muestras empleando esta metodología en nuestro laboratorio.

Se evaluaron en el IPK todas las muestras positivas y el 1% de las muestras negativas.

Organización del trabajo.

RECEPCION Y PROCESAMIENTO DE MUESTRA

DOCUMENTACION

LISIS MANUAL



AREA DE MEZCLA

MEZCLA DE REACCIÓN

RESULTADOS



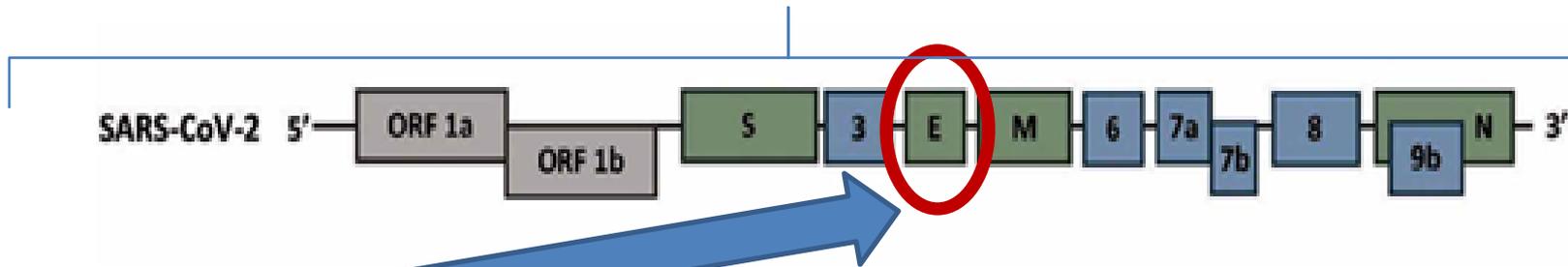
AREA DE PCR

REACCIÓN DE AMPLIFICACIÓN

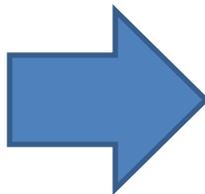
INTERPRETACION DE CURVAS

Metodología del kit RIDA.

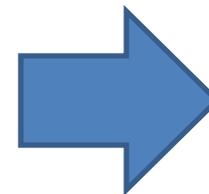
GENOMA DEL SARS-COV-2



KIT RIDA



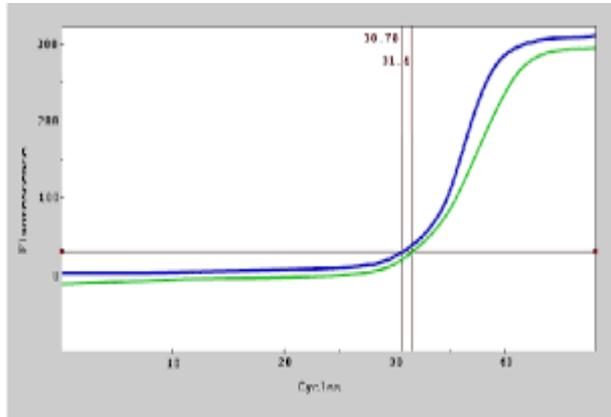
**Purificación Automatizada
del ARN viral**



RT-PCR

COMPARACIÓN DE RESULTADOS

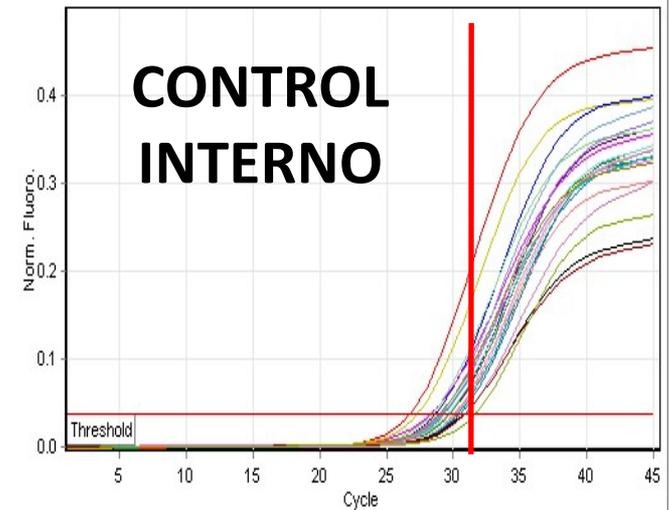
Curvas con purificación automatizada



Igual CT

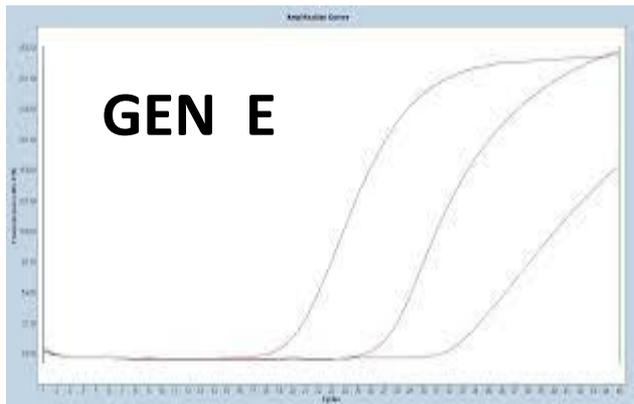


Curvas con lisis manual



CONTROL INTERNO

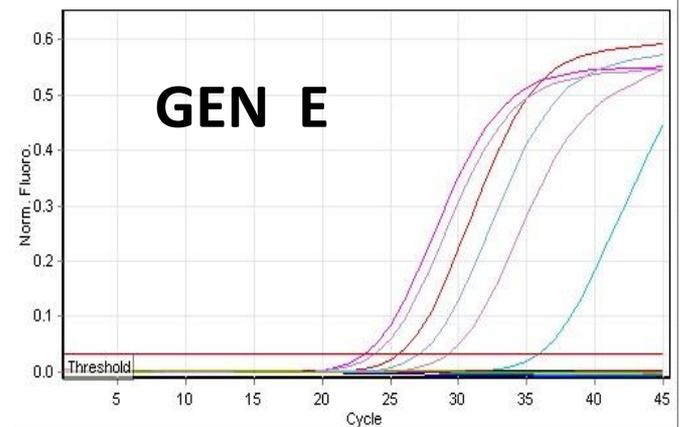
GEN E



Igual sigmoide



GEN E



Control de calidad y Confirmación en IPK.

- ✓ Total de muestras procesadas con RIDA:
15045 muestras
- ✓ Concordancia de las Muestras *Negativas*
con IPK: (99, 76% confirmado)
- ✓ Concordancia de las Muestras *Positivas*:
100 % concordancia.

CONCLUSIONES.

En nuestro laboratorio se introdujo el empleo de este kit empleando lisis manual y reacciones en tubos 0,2 ml. Para su introducción, se compararon los resultados para 30 muestras (incluyendo positivas y negativas) obtenidos en nuestro laboratorio y en el laboratorio del IPK, laboratorio de referencia para este diagnóstico que emplea extracción y purificación del ARN automatizada. Se procesaron muestras empleando esta metodología en nuestro laboratorio. Se evaluaron en el IPK todas las muestras positivas y el 1% de las muestras negativas.

Impactos.

- **Económico**: Las modificaciones realizadas permiten un ahorro en reactivos y equipos por determinación, ya que:
- Se sustituye la extracción automatizada (equipo de extracción) por procedimiento de lisis manual;
- además se emplea un reactivo que forma parte de otro kit comercial y del que se dispone en grandes cantidades en el país sin costo alguno.

Impactos.

- Social: Permite ofrecer un diagnóstico por técnica de biología molecular de COVID - 19 a la población
- Científica: Se garantiza la robustez del resultado, pues fue comparado con los obtenidos mediante el procedimiento automatizado en el laboratorio de referencia del país.