



KIT DE DETECCIÓN DE COVID-19 BASADO EN MICROCHIP RT-PCR

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es una enfermedad infecciosa causada por el coronavirus 2, una enfermedad aguda y severa (SARS-CoV-2), también conocida como el nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV). Desde que la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la pandemia del Coronavirus, existe una gran necesidad en su detección con precisión, rapidez y rentabilidad. El método estándar de esta prueba es la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) realizada en muestras respiratorias así como hisopos nasofaríngeos u orofaríngeos, esputo, aspirados del tracto respiratorio inferior, lavado bronco-alveolar y lavado / aspirado nasofaríngeo o aspirado nasal.

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE. UU., ha diseñado ensayos de RT-PCR y ha publicado un protocolo para la detección de SARS-CoV-2. La compañía Integrated DNA Technologies, Inc. (IDT) proporciona sondas de cebadores CDC 2019-nCoV para los ensayos de CDC para uso en investigación (RUO).

Para lograr rapidez, rentabilidad, minimización del consumo de reactivos y disminución de errores humanos durante la prueba de RT-PCR del SARS-CoV-2, Lumex Instruments Canadá ha desarrollado un kit de microchip precargado con cebadores y sondas RUO liofilizados en el microchip. Las sondas de cebadores N1 y N2 se orientan a regiones dentro del gen de la nucleocápside del SARS-CoV-2 (N), y HsRPP30 se orienta al gen RNase P presente en el ADN humano.

CARACTERÍSTICAS Y BENEFICIOS:

- Los ensayos actuales de PCR en tiempo real consumen una gran cantidad del volumen de reactivos (20µl por reacción). La prueba puede ser costosa y puede contribuir a un posible cuello de botella en el suministro de reactivos de PCR durante brotes de enfermedad.
- Las principales ventajas de la innovación de microchip son el bajo consumo de reactivos (1.2µl por reacción), análisis rápido, envío en condiciones ambientales y un proceso conveniente de análisis por PCR.
- Las pruebas de PCR en tiempo real basadas en microchips emergentes de patógenos como el SARS-CoV-2, proporcionan una detección sensible, específica y rápida con bajo consumo de reactivos.
- La facilidad de uso con reactivos de PCR liofilizados en los microchips mejorarán significativamente la confiabilidad del análisis en entornos de respuesta rápida al reducir errores asociados con el operador.
- Este innovador analizador de PCR compacto basado en microchips y de baja energía está listo para implementarse como red de punto de análisis.
- La detección temprana de patógenos minimizará la pérdida económica debido a brotes de enfermedad.
- Esta tecnología ayudaría a mantener la salud pública y mejoraría la efectividad de las medidas de cuarentena. Además, los microchips pueden ser diseñados para aplicaciones específicas de patógenos en brotes de enfermedad futuros.



SOFTWARE FÁCIL DE USAR

El software fue diseñado para adquirir datos de PCR en tiempo real y permitir los pasos de operación simplificada. El software ofrece la interpretación automática de resultados, permite el análisis manual de datos e imprime reportes en conformidad con los requisitos de 21 CFR parte 11.



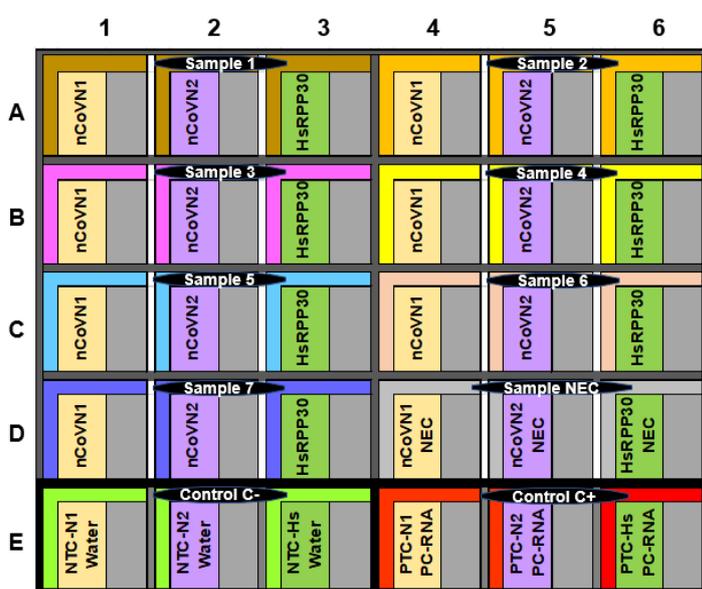


DETECCIÓN DE FLUORESCENCIA

Dos canales de detección del analizador AriaDNA reportan los siguientes paneles de objetivos:

Canal 1 (FAM)	1. SARS-CoV-2 N-gene: N1, 2. SARS-CoV-2 N-gene: N2, y 3. RNase P gene HsRPP30 humano (Control Interno)
Canal 2 (Cy5)	No empleado por el kit

DISEÑO DEL MICROCHIP



Panel del prueba:

- nCoV N1 (SARS-CoV-2 N1)
- nCoV N2 (SARS-CoV-2 N2)
- HsRPP30 (Control Interno)

Controles:

- NEC (Control de extracción negativa)
 - Ejecutar con muestra NEC
- PTC (Plantilla de control positivo)
 - Ejecutar con SARS-CoV-2 RNA
- NTC (Plantilla de control negativo)
 - Ejecutar con aguas libres de nucleasas

Número de muestras por chip:

Se pueden analizar 7 muestras de pacientes.

DIAGRAMA DE FLUJO DE ANALISIS

- Los microchips precargados:** Los kits de preparación de muestras se deben comprar por separado siguiendo el Panel de diagnóstico de RT-PCR en tiempo real de la CDC, Nuevo Coronavirus 2019 (2019-nCoV), solo para uso de emergencia, Instrucciones de uso: CDC-006-00019 , Revisión: 03, página 7, descargado de <https://www.fda.gov/media/134922/download>
 - Kit de extracción de ARN:** para extraer ARN de las muestras de prueba, la lista de los kits se presenta en la página 8 del documento mencionado anteriormente.
 - Solución Master Mix:** la lista de mezclas maestras como TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix, CG o Quantabio qScript™ XLT One-Step RT-qPCR ToughMix o UltraPlex 1-Step ToughMix, o Promega GoTa Probe 1-Step RT- El qPCR System está presente en la página 25 del documento mencionado anteriormente. El consumo de la mezcla maestra (Master Mix) por muestra se reducirá 10 veces en comparación con los volúmenes recomendados para la PCR convencional.
- Los microchips vacíos:** requieren la compra de los cebadores y sondas recomendadas <https://www.idtdna.com/pages/landing/coronavirus-research-reagents> y la solución Master Mix, así como el TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix, CG <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A15299?SID=srch-srp-A15299#/A15299?SID=srch-srp-A15299>. El consumo de los reactivos de PCR por muestra disminuirá 5 veces en comparación con los volúmenes recomendados para un PCR convencional.





3. **Mezcla de muestras con los reactivos requeridos y adición de las mezclas resultantes al microchip:** siguiendo el manual de instrucciones adjuntado con los microchips, después de la adición de la mezcla, inserte el microchip en el analizador AriaDNA y ejecute el análisis con un protocolo preestablecido en una computadora.
4. **Tasa de consumo de microchips estimado:** se pueden consumir 8 microchips diariamente por instrumento (por turno de trabajo de 8 horas). Se puede asumir que el consumo semanal aproximado por cada instrumento, AriaDNA, es de 40 microchips. Se recomienda ordenar 200-250 microchips (8-10 cajas) por cada instrumento mensualmente (basado en el uso común de nuestros clientes). Pedidos de microchips más grandes también pueden ser realizados.

RESULTADOS

- Se obtienen resultados en tiempo real de RT-PCR y se imprimen reportes en 50 minutos.
- El límite de detección es igual a 9×10^3 copias en 1 ml de la muestra.

Para uso exclusivo en investigación (RUO). Los resultados positivos no deben usarse como la única base para el tratamiento u otras decisiones de manejo del paciente. Los resultados positivos son indicativos de infección activa con 2019-nCoV siempre que otras observaciones clínicas, el historial del paciente y la información epidemiológica estén en línea con los resultados. Los resultados positivos no descartan infección bacteriana o coinfección con otros virus. El agente detectado puede no ser la causa definitiva de la enfermedad. Los resultados negativos no excluyen la infección 2019-nCoV y no deben usarse como la única base para el tratamiento u otras decisiones de manejo del paciente. Los resultados negativos deben combinarse con observaciones clínicas, antecedentes del paciente e información epidemiológica.

La información y las especificaciones de esta publicación están sujetas a cambios sin previo aviso. Para obtener información más específica, comuníquese con el representante de Lumex Instruments: sales@lumexinstruments.com

