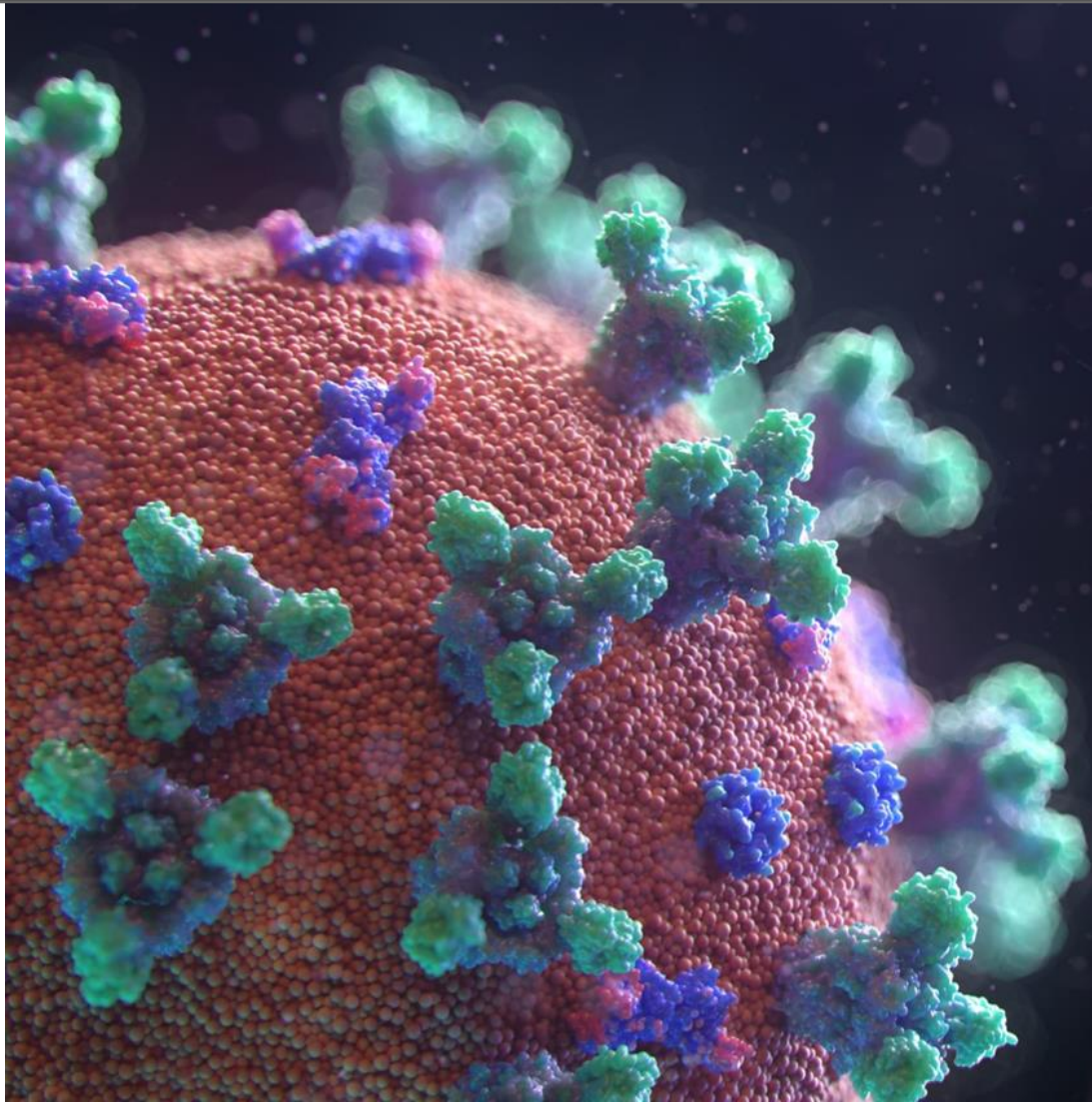


NUESTRA PRUEBA MOLECULAR DETECTA 3 GENES: RdRp, Gen N, Gen E



CLIENTES:

- Natclar
- Synlab
- Suiza Lab
- Biolab Inmunomed
- Hidmor
- Medlab
- Genomics Perú
- Silvateam Perú
- Comercial
- United Trading
- Hipra Perú
- Multilab
- Oncogenomics
- Alfa Biol
- Natucultura S.A.
- Biko S.A.
- Genes Perú
- Lab Minsur S. A.
- CARE Perú
- Genomics Perú
- Inbiomedic
- Oncogenomics
- Sanipes
- Farvet
- Capris S.A.
- Centro Médico Blau
- Cenares
- Polimédicos M&G
- Diágnostika Capris
- Alfabiol
- Socios en Salud
- Cerper

CLIENTES:

- O.P.S. - Organización Panamericana de la Salud
- Ministerio de Salud – Perú
- Instituto Nacional de Salud – I.N.S.
- Perúcompras
- Cenares
- EsSalud Arequipa, Hospital Nac. Carlos Alberto Seguíñ Escobedo
- EsSalud Huancayo Hospital Nac. Ramiro Prialé P.
- Hospital Militar Central del Perú - HMC
- Hospital Militar Coronel Luis Arias Schreiber
- Dirección Regional de Salud Cusco
- Dirección Regional de Salud Ayacucho
- Gerencia Regional de Salud La Libertad
- Dirección Sub Regional de Salud I Jaen
- Servicio Nacional de Sanidad Agraria
- Gobierno Regional San Martín
- Gobierno Regional de La Libertad
- Organismo Nacional Sanidad Pesquera Sanipes
- Dirección Regional de Salud Amazonas
- Oficina Gestión Servicios de Salud Alto Huallaga
- Programa De Desarrollo De Sanidad Agrope
- Universidad Científica del Sur
- Universidad Nacional Mayor De San Marcos
- Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas
- Unidad Ejecutora Hospital li-2 Tarapoto
- Universidad Peruana Cayetano Heredia
- Laboratorios Médicos Alberto Yuen y Guillermo Rios SCRL
- Instituto Genómica y Terapias Avanzadas
- Oficina Gestión de Servicios de Salud Alto Mayo
- Hospitales Municipales S.A.C.
- Asociación benéfica Prisma
- Socios en Salud Sucursal Perú
- Certificaciones del Perú S.A.
- Farmacológicos Veterinarios

La ventaja y el valor agregado que tiene la detección del gen E

1. LA VENTAJA Y EL VALOR AGREGADO QUE TIENE LA DETECCIÓN DEL GEN E:

- Con la presencia del GEN E, si este se pudiera detectar y diera positivo junto con el ORF1ab o con el GEN N, automáticamente se interpreta como 2019-nCoV detectado sin necesidad de repetir la corrida.

12. Análisis e interpretación de datos

La siguiente tabla enumera los resultados esperados para el kit RT-PCR multiplex en tiempo real para 2019-nCoV. Si se obtienen resultados que no siguen estas directrices, vuelva a extraer y volver a probar la muestra. Si la repetición de pruebas produce resultados similares, póngase en contacto con Liferiver para consultarlo.

Valor Ct				Interpretación de resultados ^[a]
ORF1ab	N	E	IC	
+	+	+	/	2019-nCoV detectado
+	—	+	/	
+	+	—	/	
—	+	+	/	
—	—	—	+	2019-nCoV no detectado ^[b]
—	—	—	—	No válido; repita las pruebas o colecte una nueva muestra del paciente.
+	—	—	/	Repita las pruebas. Si sigue siendo el mismo resultado, la muestra es 2019-nCoV positiva.
—	+	—	/	Repita las pruebas. Si sigue siendo el mismo resultado, la muestra es 2019-nCoV ARN presuntivo positivo.
—	—	+	/	

“+” representa una señal de detección positiva, que se define como Ct ≤ 41;
 “-” representa una señal de detección negativa, que se define como Ct > 41;
 “/” no representa ningún requisito. La detección del control interno no es necesaria si el resultado es positivo en cualquiera de los otros tres canales de detección.

Note:

- [a] Los laboratorios deben informar de su resultado diagnóstico según corresponda y de conformidad con su sistema específico de presentación de informes.
- [b] No se han determinado los tipos óptimos de muestras y el momento de los niveles máximos de viral durante las infecciones causadas por 2019-nCoV. La recolección de múltiples especímenes del mismo paciente puede ser necesaria para detectar el virus.

El Gen E ha cobrado mayor importancia en los últimos meses debido a que nos otorga la información de la síntesis de envoltura viral, lo cual está directamente relacionado con el ensamblaje final del virus para su liberación desde la célula al exterior, por ende, la presencia del **GEN E** nos clarifica un paciente positivo con actividad viral latente.

SARS-CoV resultó en más de 8000 casos reportados en 37 países y con una tasa de mortalidad de 9,6 %. En 2012, fue reportada la infección por MERS-CoV en pacientes que desarrollaron neumonía aguda e insuficiencia renal en Arabia Saudita. En 2015 se produjo un brote secundario relativamente grande con 186 casos confirmados en Corea del Sur y hasta enero de 2020, se notificaron más de 2500 casos confirmados por laboratorio. con una tasa de mortalidad de 34,4 % (Sin-Yee *et al.*). SARS-CoV-2 presenta una similitud genómica de un 79 % con SARS-CoV y de un 50 % con MERS-CoV. Si bien, SARS-CoV-2 es más transmisible en comparación con ambos (debido principalmente a la gran cantidad de pacientes asintomáticos infectantes), SARS-CoV-2 aparentemente es menos patogénico, ya que, tiene una tasa de mortalidad promedio de 3,8 % (Zi-Wei *et al.*; Dae-Gyun *et al.*).

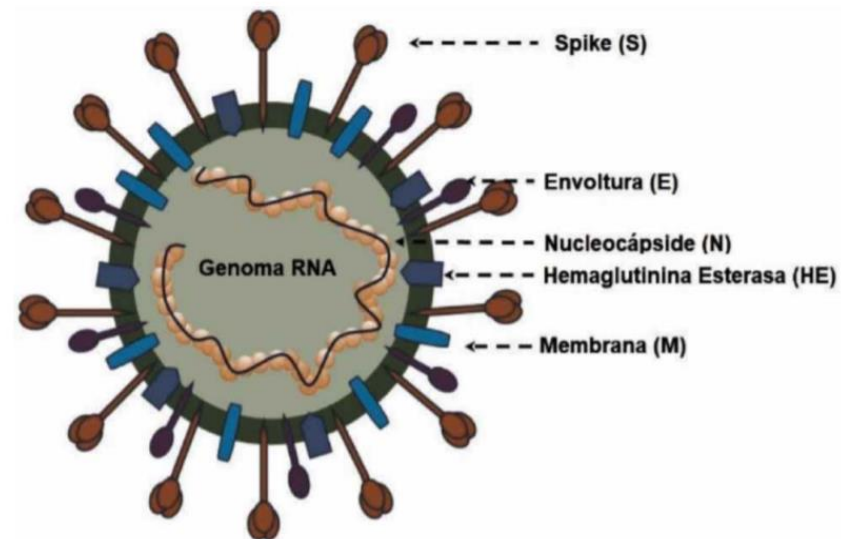


Fig. 1. Forma y estructura del virión de SARS-CoV-2. Partícula vírica de SARS-CoV-2 que posee una nucleocápside compuesta por RNA genómico asociado a la proteína (N), cubierto por una envoltura externa de proteínas estructurales principales (S), (M) y (E) y proteínas accesorias como (HE). (Adaptado de Yuefei *et al.*).

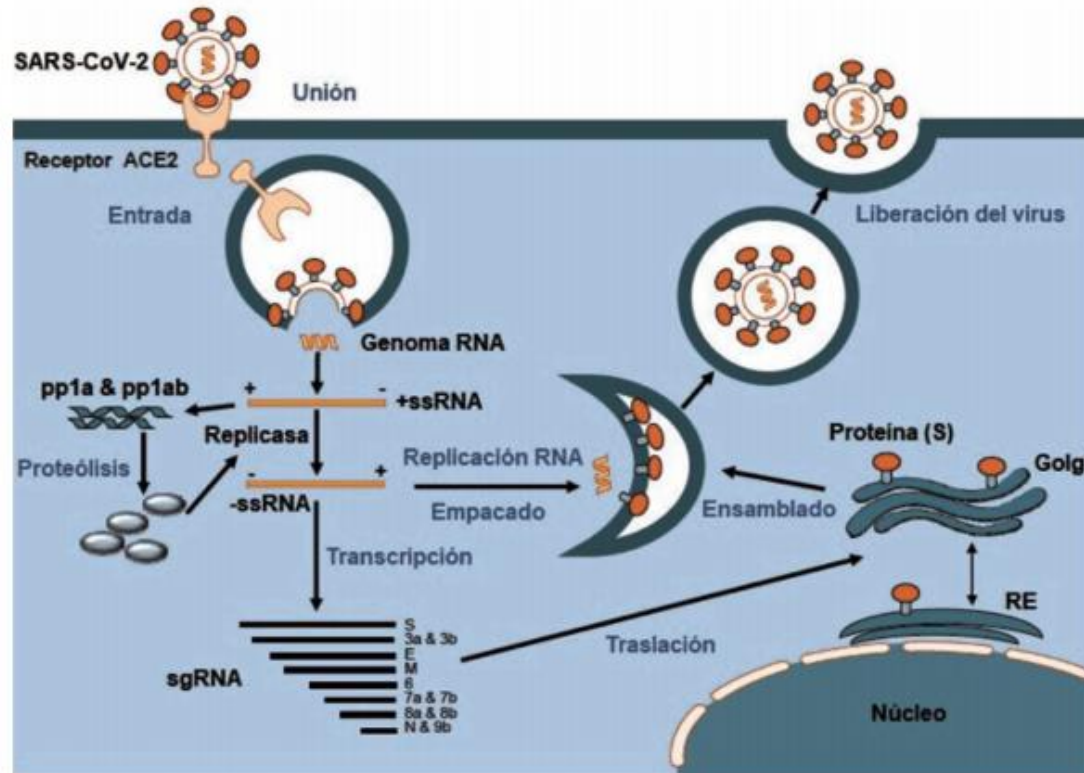


Fig. 3. Mecanismo de patogénesis de SARS-CoV-2. La infección por SARS-CoV-2 comienza con la unión de la proteína (S) con el receptor ACE2 de la célula huésped. El virión ingresa vía endocitosis y, posteriormente, el RNA genómico viral se libera al citoplasma y se traduce directamente en las poliproteínas pp1a y pp1ab que sufrirán proteólisis enzimática para generar las 16 proteínas (nsp) del complejo RTC. El complejo RTC, replica y sintetiza un conjunto de (sgRNA) que codifican para la producción de las proteínas estructurales principales (S), (M), (E) y (N); y las proteínas accesorias. Todas estas proteínas, junto con la nucleocápside, serán ensambladas a nivel del complejo de Golgi para formar las nuevas partículas víricas y así, finalmente, ser liberadas de la célula infectada. (Adaptado de Zhu *et al.*, 2013).

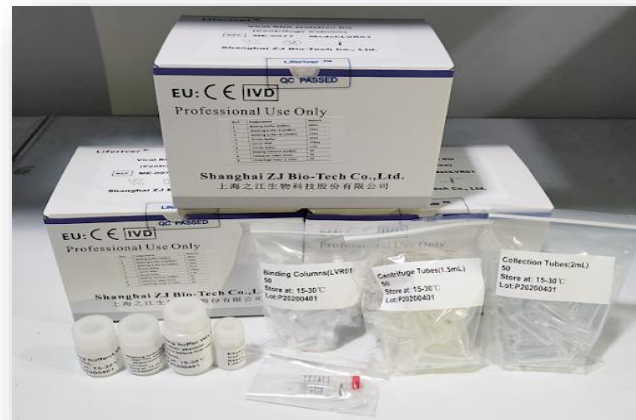
2. LÍMITE DE DETECCIÓN DEL KIT DE PCR.

4. Contenido del Kit

Ref.	Tipo de Reactivo	Presentación 25 rx.
1	Nuevo CoV (2019-nCoV) Super Mezcla	1 vial, 513µL
2	RT-PCR Mezcla de Enzimas	1 vial, 27µL
3	Nuevo CoV (2019-nCoV) Control Interno	1 vial, 30µL
4	Nuevo CoV (2019-nCoV) Control Negativo	1 vial, 400µL
5	Nuevo CoV (2019-nCoV) Control Positivo	1 vial, 30µL

Sensibilidad Analítica: 1×10^3 copies/mL;

Nota: La sensibilidad analítica depende del volumen de la muestra, el volumen de elución, el método de extracción de ácido nucleico y otros factores. Si utiliza los kits de extracción de ARN recomendados, la sensibilidad del análisis es la misma que declara. Sin embargo, cuando el volumen de la muestra es docenas o incluso cientos de veces mayor que el volumen de la elusión por algún método de concentración, la sensibilidad puede ser mucho mayor.

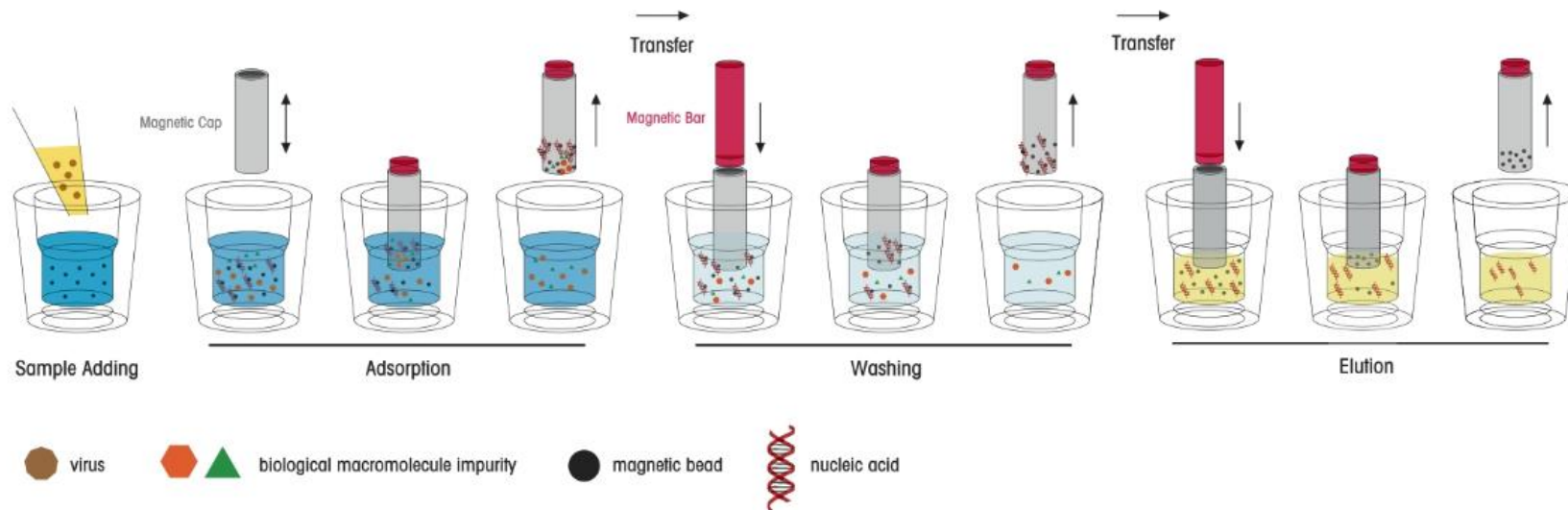


3. GUÍA RÁPIDA PARA EL USO DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN.

Principle of the System

The principle underlying magnetic bead procedures involves negatively-charged nucleic acids binding to magnetic beads reversibly, washing and elution as follows -

- (1) **Binding:** nucleic acids released from the sample are binded to the magnetic beads
- (2) **Washing:** non-nucleic acid components are removed
- (3) **Elution:** purified nucleic acids are released from beads into the elution buffer





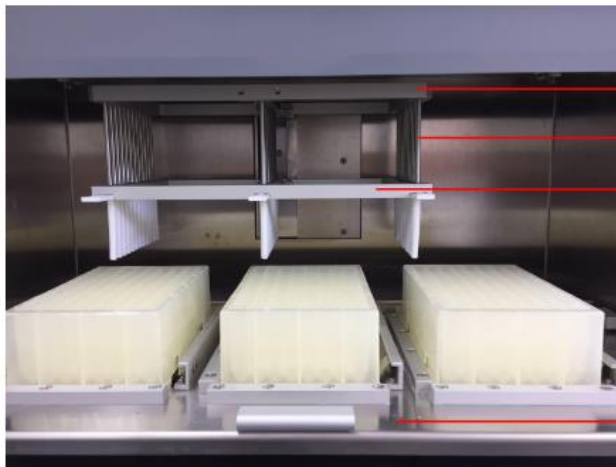
1

2



7

8



3

4

5

6

1. Panel de control

4. Barra magnética

7. Tapa magnética

2. Puerta

5. Marco de tapa magnética

8. Placa de 96 pocillos profundos

3. Marco de barra magnética

6. Plataforma de transporte de placas de pocillos

Panel frontal



Tecla de función: "INICIO", "PARADA"

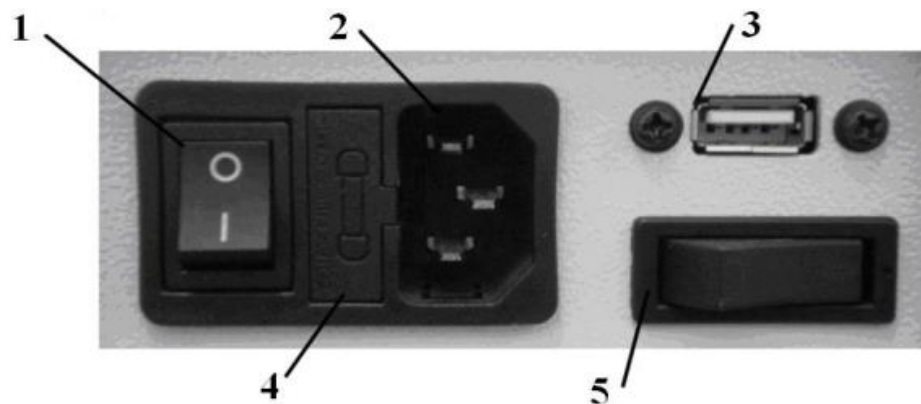
"INICIO": Comienza a ejecutar el programa seleccionado.

"DETENER": Presione el botón "DETENER" una vez, el programa se pausará y al presionar dos veces finalizará el programa.

Tecla de dirección: "▲", "▼" (Circulación hacia adelante o hacia atrás, elija un programa preestablecido).

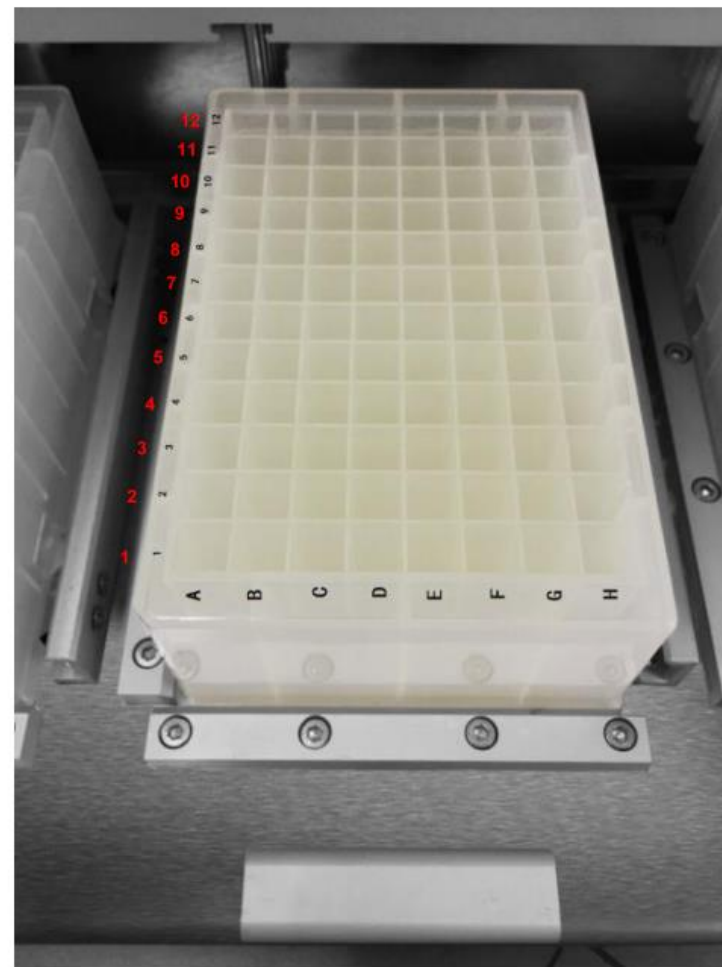
Pantalla LCD: muestra el nombre del programa seleccionado, el paso (unión, lavado, elución, liberación de perlas) y el tiempo de ejecución.

Panel trasero



- 1. Interruptor de encendido / apagado (interruptor de encendido)
- 2. Receptáculo del cable de alimentación
- 3. Puerto USB
- 4. Fusible
- 5. Interruptor de lámpara UV

Importante: Al colocar la placa de 96 pocillos profundos, tenga en cuenta que el pozo A1 debe estar en la esquina inferior izquierda.



4. SÍ, EL KIT ESTÁ VALIDADO PARA CORRERSE EN EL MIC O EN EL ROTOR GEN – Q.

9.3 Protocolo RT-PCR

El volumen de Mezcla Maestra para cada reacción debe pipetearse de la siguiente manera:



- 1) Los volúmenes de Super Mezcla y Mezcla de Enzimas por reacción se multiplican con el número de muestras, que incluye el número de controles y muestras preparadas. El agua de grado molecular se utiliza como control negativo. Por razones de pipeteo impreciso, agregue siempre una muestra virtual adicional. Mezcle completamente y luego gire hacia abajo brevemente con una centrifuga.
- 2) Pipeteé 20 µL de Mezcla Maestra con micropipetas de puntas con filtro estériles para cada una de las placas/tubos de reacción de PCR en tiempo real. Añadir por separado el templado 5 µL (ácido nucleico extraído del control negativo y la muestra, control positivo sin extracción) a diferentes placas de reacción/tubos. Cierre inmediatamente las placas/tubos para evitar la contaminación.
- 3) Realizar una breve centrifugación recoger la mezcla maestra y el templado de parte inferior de los tubos de reacción.

4) Realice el siguiente protocolo en el instrumento de **ABI Prism®7500/7900; Bio-Rad CFX96; Rotor Gene™6000; SLAN:**

45°C por 10 minutos	1 ciclo	Selección de Canales de Fluorescencia	
95°C por 3 minutos	1 ciclo	FAM	ORF1ab
95°C por 15 seg, 58°C por 30 seg (Fluorescencia medida en 58°C)	45 ciclos	HEX/VIC/JOE	Gen N
		Cal Red 610/ROX/TEXAS RED	Gen E
		Cy5	Control Interno

⚠ Realice el siguiente protocolo en el instrumento **MIC POC Dx48:**

45°C por 10 minutos	1 ciclo	Selección de Canales de Fluorescencia	
95°C por 90 seg	1 ciclo	Verde	ORF1ab
95°C por 3 seg, 58°C por 20 seg (Fluorescencia medida en 58°C)	45 ciclos	Amarillo	Gene N
		Naranja	Gene E
		Rojo	IC



MIC POC Dx48
Termociclador qPCR en tiempo real



Rotor-Gene Q
Termociclador PCR en tiempo real

