

Curso

Biología molecular aplicada al diagnóstico médico

2021



CURSO BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA AL DIAGNOSTICO MEDICO

Diagnóstico molecular covid-19

9 de noviembre de 2021

Lic. Javier Sfalcin

Especialista Biología Molecular

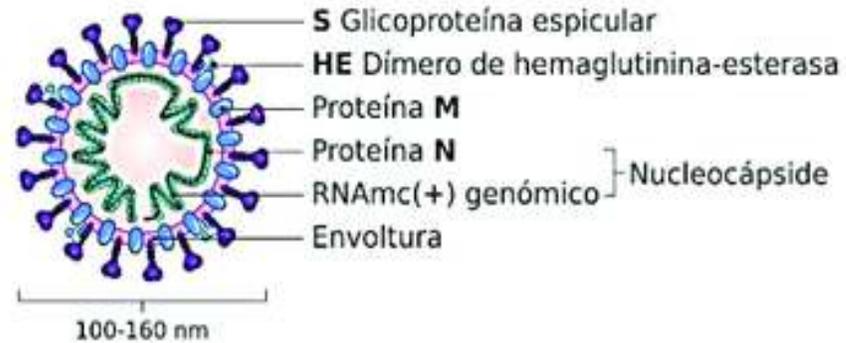
Laboratorio CIBIC



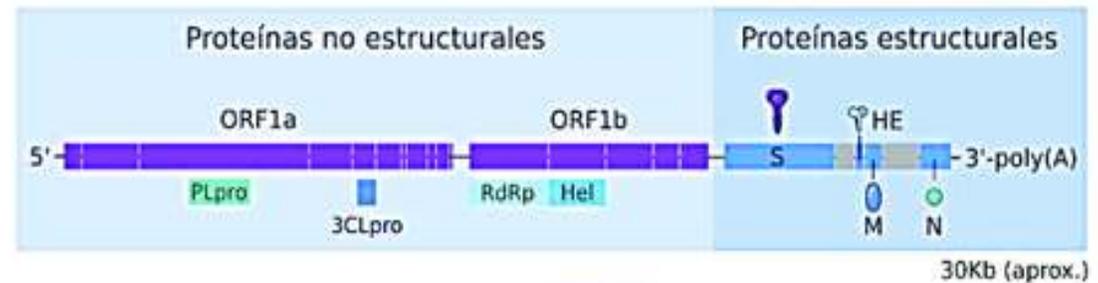


Coronavirus SARS-CoV-2

Estructura

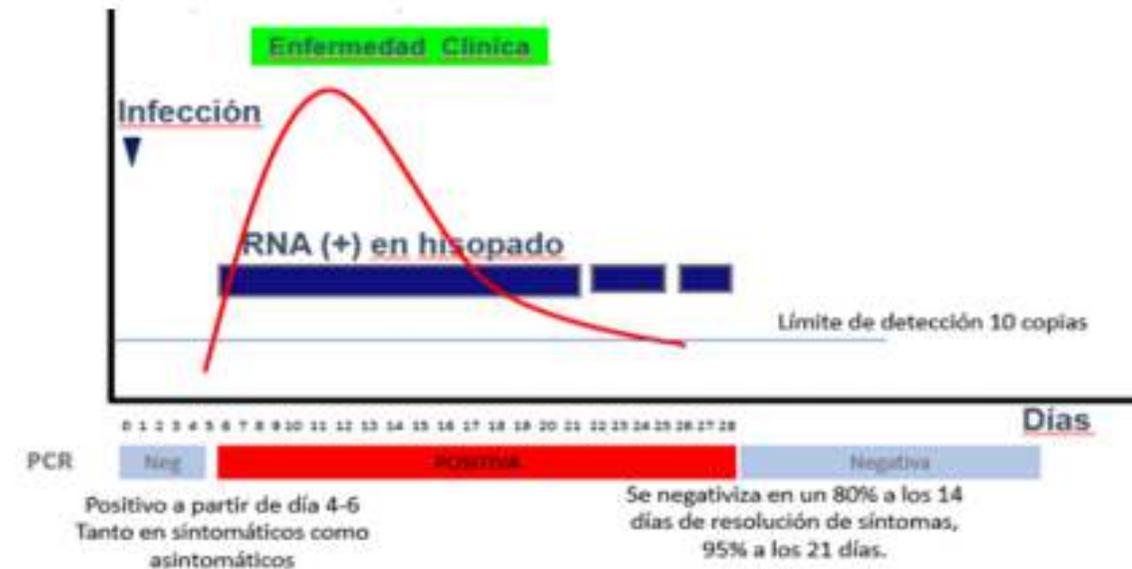
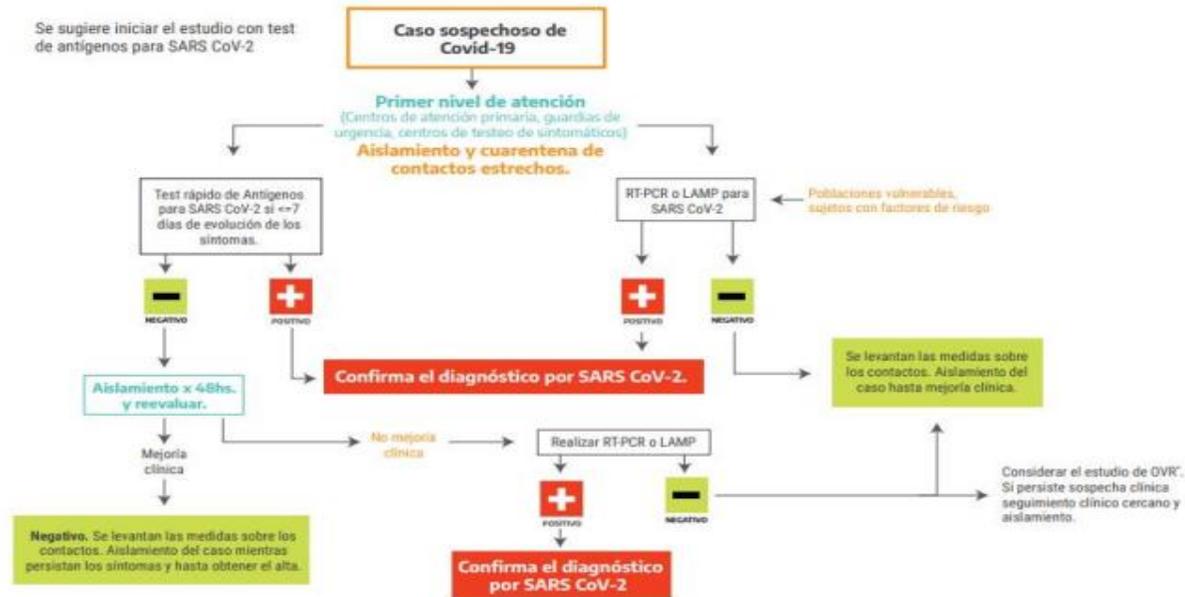


RNAmc(+) genómico





Algoritmo 1: Diagnóstico en personas con síntomas compatibles con caso sospechoso de COVID-19.



DIAGNOSTICO MOLECULAR DE COVID-19



Detección directa del genoma viral por técnicas de biología molecular (RT-PCR, LAMP, etc.) basadas en la amplificación específica de regiones del genoma de SARS CoV-2 que incluye los genes E, N, RdRP y S.

Las muestras empleadas y recomendadas para el diagnóstico son las del tracto respiratorio y saliva

- Deben procesarse en un laboratorio por personal especializado (en ARG, requiere permiso especial)
- Requieren múltiples insumos
- Infraestructura (cabina de bioseguridad)
- El tiempo hasta los resultados es variable (1 a 3 días)



COVID EN EL LABORATORIO



1- Suspensión de hisopados

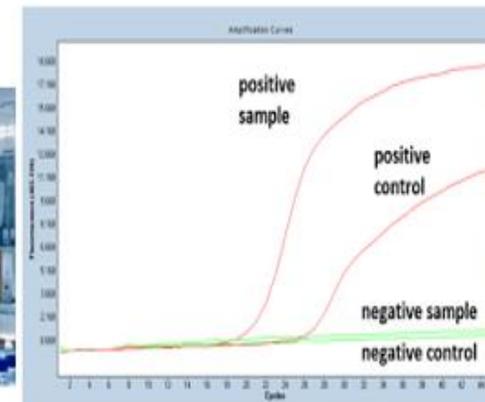


2- Extracción de RNA viral (manual/ automatizada)



3- RT/PCR

4- Validación técnica y clínica del resultado

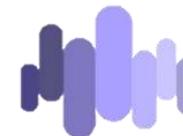


PCR A: ORF1ab, N, RdRp

PCR B: GEN E, RNP, GEN N

PCR C: GEN E, GEN N

PCR D: GEN E, GEN N, VAR DELTA



Molecular Tests Impacted by SARS-CoV-2 Mutations

The FDA's analysis to date has identified the following EUA-authorized molecular tests whose performance could be impacted by SARS-CoV-2 viral mutations:

EJEMPLOS:

Accula SARS-CoV-2 Test (Mesa Biotech Inc.)

Linea COVID-19 Assay Kit (Applied DNA Sciences, Inc.)

TaqPath COVID-19 Combo Kit (Thermo Fisher Scientific, Inc.)

Xpert Xpress SARS-CoV-2, Xpert Xpress SARS-CoV-2 DoD, Xpert Omni SARS-CoV-2 (Cepheid)

orf1ab

GEN N

GEN S

**AMPLIFICACION DE LOS 3 GENES
PCR COVID DETECTABLE**

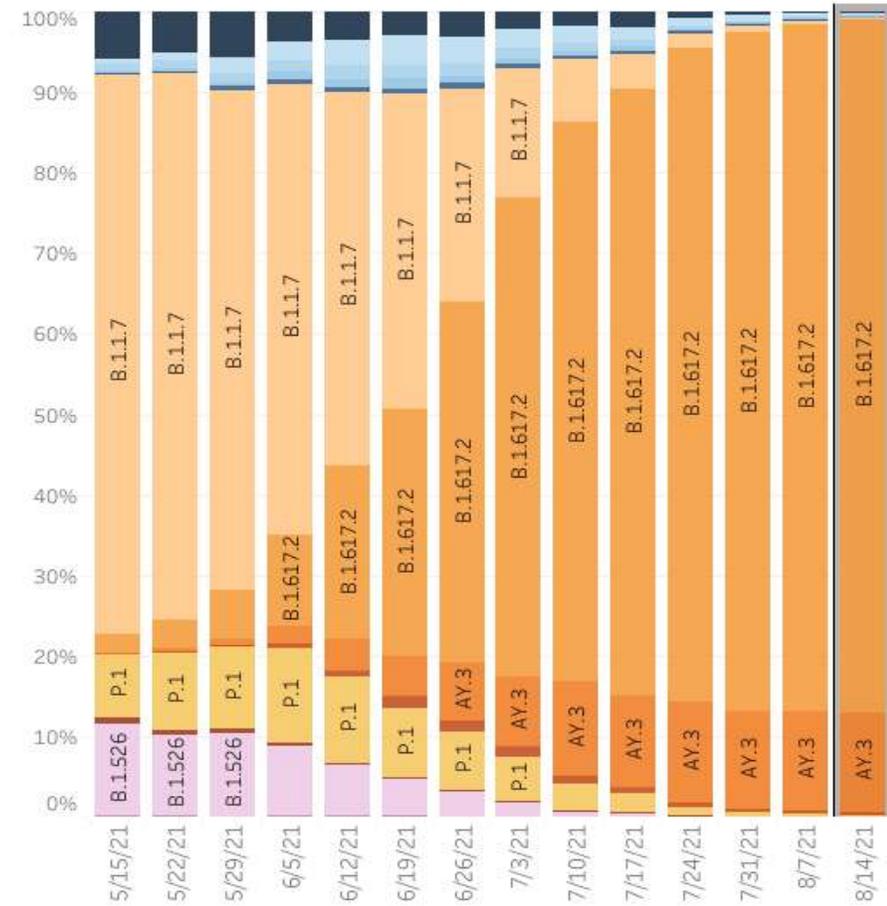
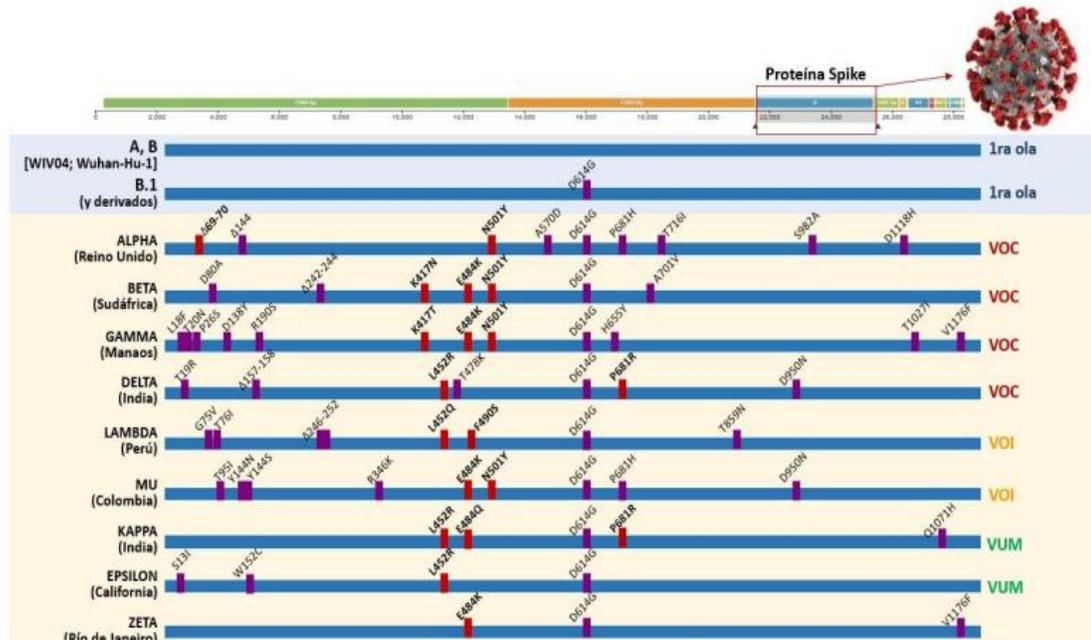
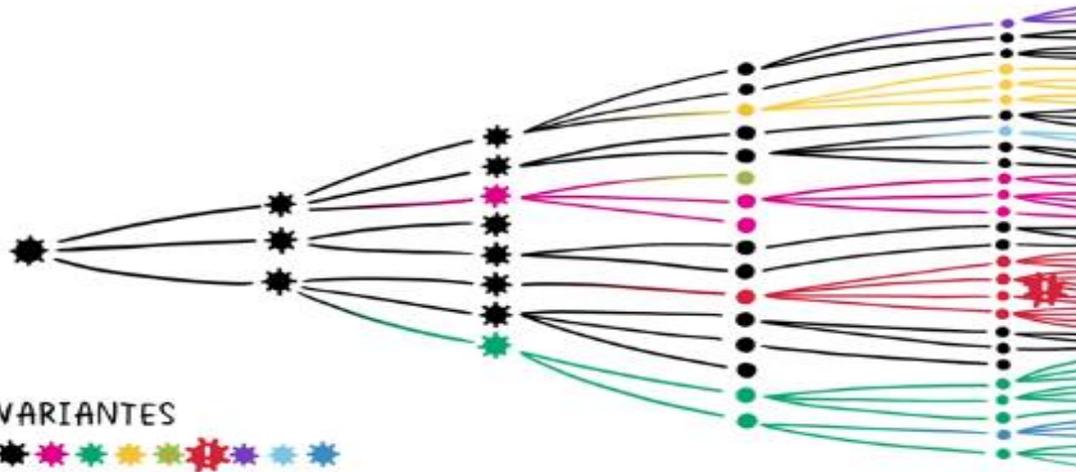
orf1ab

GEN N

GEN S

**DROPOUT DEL GEN S POR MUTACION
del69-70
PCR COVID DETECTABLE??**

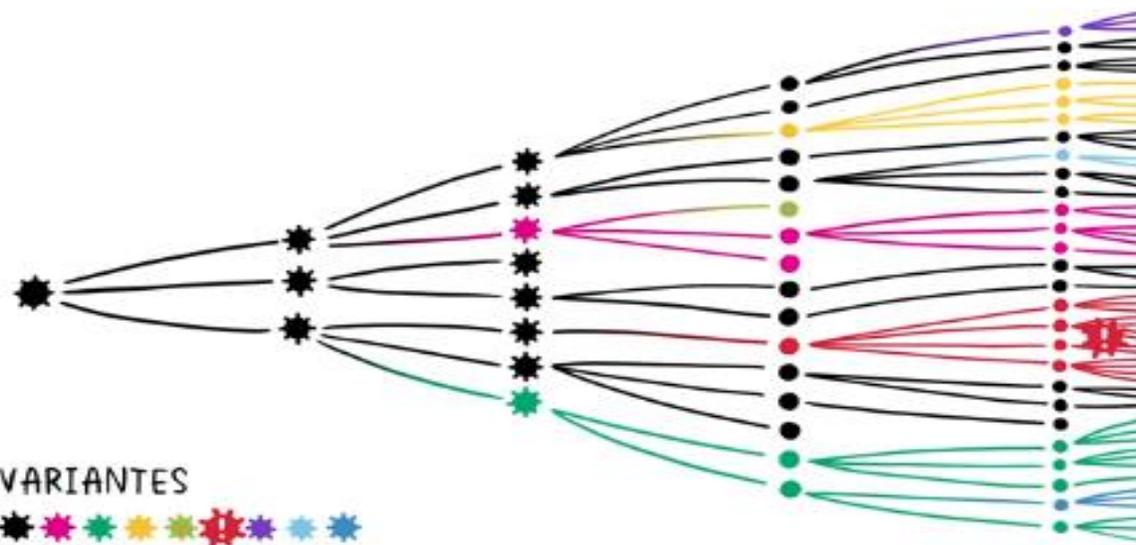
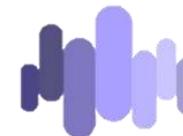
Nueva Variante UK/Alpha



Ej: Rio de Janeiro (BR)



Organización
Mundial de la Salud



VARIANTES DE PREOCUPACIÓN

VARIANTES DE INTERES

VARIANTES BAJO MONITOREO

SECUENCIACION NGS



	Amplicon sequencing	Whole Genome Sequencing (WGS)
Precio de la muestra	\$X	\$XXX
	1M DE LECTURAS/MUESTRA	25M – 40M DE LECTURAS/MUESTRA
Cantidad de cDNA requerido	MÍNIMO DE 1ng RNA	150ng
Automatización de formación de librerías	LIBRERÍA AUTOMATIZADA	NO AUTOMATIZABLE
Requiere experiencia en NGS	NO	SI
Análisis	MAPEO ENSAMBLAJE BUSQUEDA DE VARIANTES	ELIMINACION DE SECUENCIAS DEL HOSPEDADOR MAPEO ENSAMBLAJE BUSQUEDA DE VARIANTES

SECUENCIACION SANGER



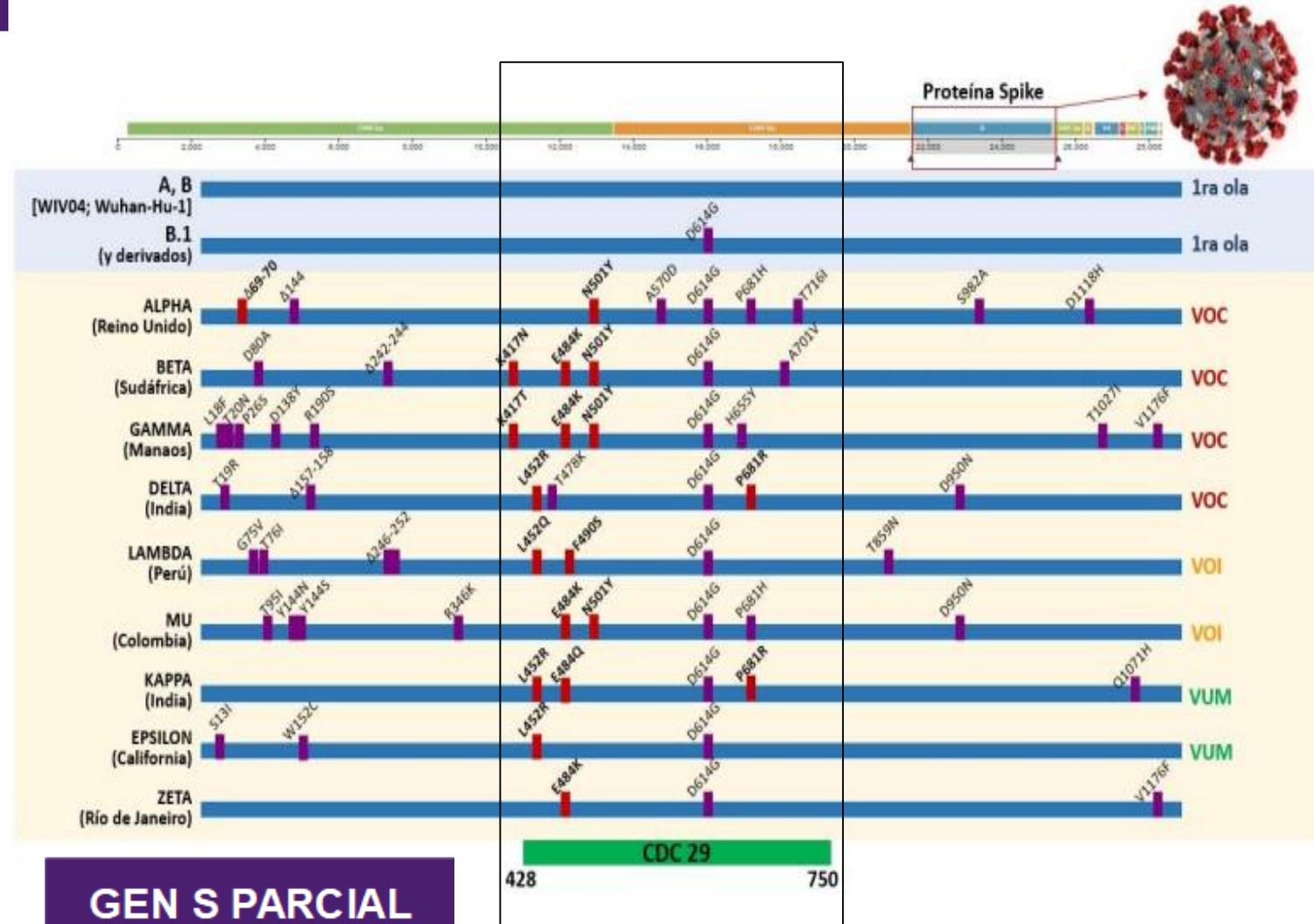
Table 1. Sequences of M13-tagged primers for analyzing the S gene. A subset of primer pairs that focus on specific regions of the S gene can be chosen according to researchers' needs; the complete list is provided in here. The M13 sequence tags are highlighted in red.

Coordinates*	Forward primer name	Forward primer sequence	Reverse primer name	Reverse primer sequence
20990-21562	SC2M1-54_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTTGATTGGTGATTGTGCAACTGTACA	SC2M1-54_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCTGTCGTTTAGTTGTTAAACAAGAACATCA
21421-21916	SC2M1-55_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTAGGGGTACTGCTGTTATGTCTTTAAA	SC2M1-55_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCAAGTAGGGACTGGGTCTTCGAA
21775-22345	SC2M1-56_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTTGGGACCAATGGTACTAAGAGGT	SC2M1-56_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCACCAGCTGCCAACCTGAAGAA
22203-22697	SC2M1-57_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTGTGATCTCCCTCAGGGTTTTTCG	SC2M1-57_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCCTTAAAGTGAAAAATGATGCGGAA
22563-23128	SC2M1-58_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTACTTGTGCCCTTTTGGTAAAGT	SC2M1-58_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCTGCTGGTGCATGTAGAAGTTCA
22986-23519	SC2M1-59_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTCCGGTAGCACACCTTGAATGG	SC2M1-59_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCCCTTATTAACAGCCTGCACG
23379-23876	SC2M1-60_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTACCAGGTGCTGTTCTTATCAGG	SC2M1-60_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCAGCTATTCCAGTTAAAGCACGGT
23737-24231	SC2M1-61_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTAATTCTACCAGTGTCTATGACCAAGAC	SC2M1-61_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCGCACAAAGGTCCAACCAGAAG
24095-24623	SC2M1-62b_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTTGCAGATGCTGGCTTCATCA	SC2M1-62b_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCCACACTCTGACATTTTAGTAGCAGC
24493-25003	SC2M1-63_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTAAATGATATCCTTTCACGTCTTGACAAA	SC2M1-63_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCTGAGTCTAATTCAGGTTGCAAAGGA
24858-25369	SC2M1-64_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTGCACACTGGTTGTAACACAA	SC2M1-64_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCTTGTACTCTTTGAGCACTGGC
25214-25790	SC2M1-65_LEFT_M13	TGTAAACGACGGCCAGTTAGGTTTTATAGCTGGCTTGATTGC	SC2M1-65_RIGHT_M13	CAGGAAACAGCTATGACCCATTTCAGCAAAGCCAAAGCC

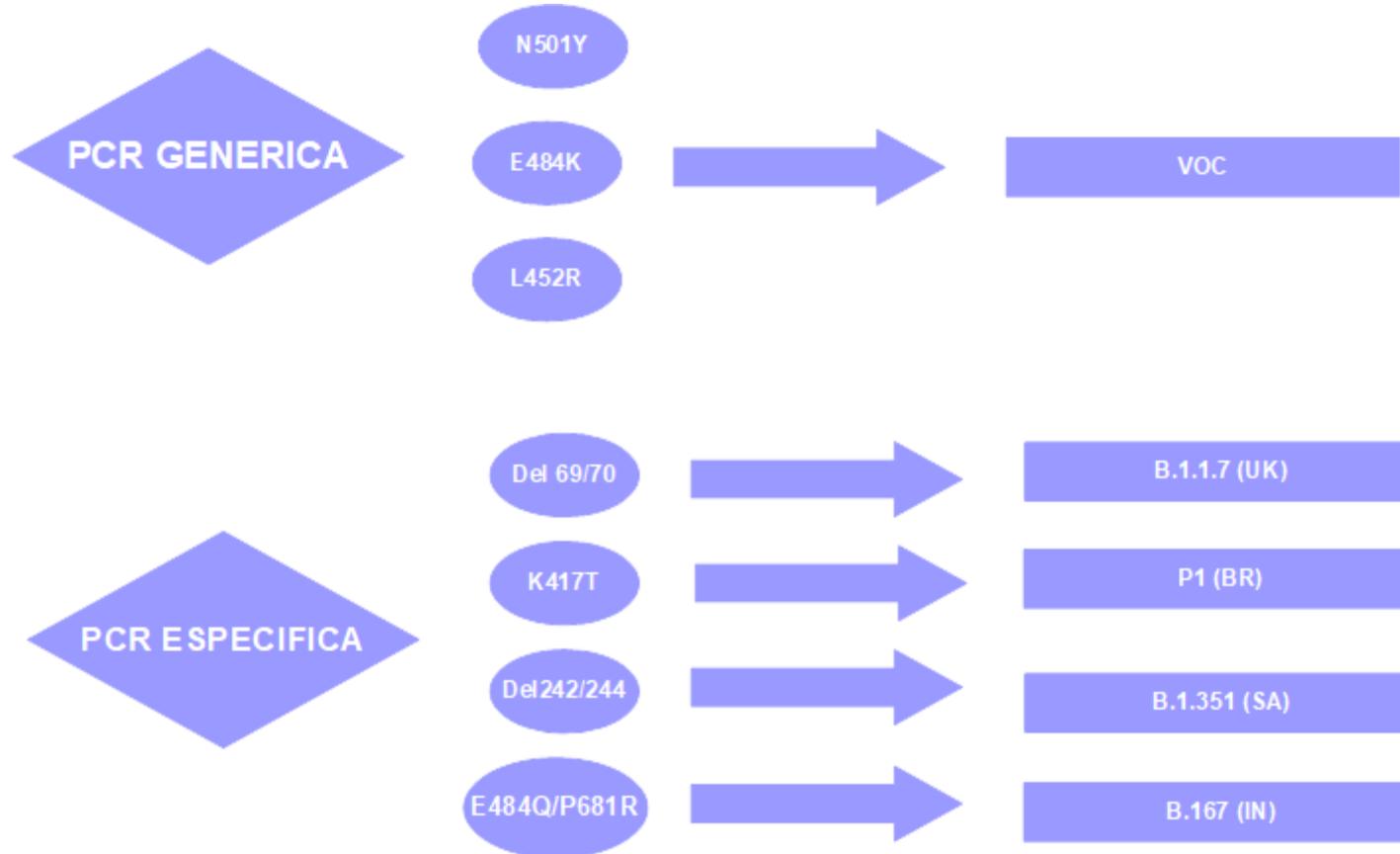
* Based on NC_045512.2 coordinates.

GEN S COMPLETO

SECUENCIACION SANGER



PCR EN TIEMPO REAL

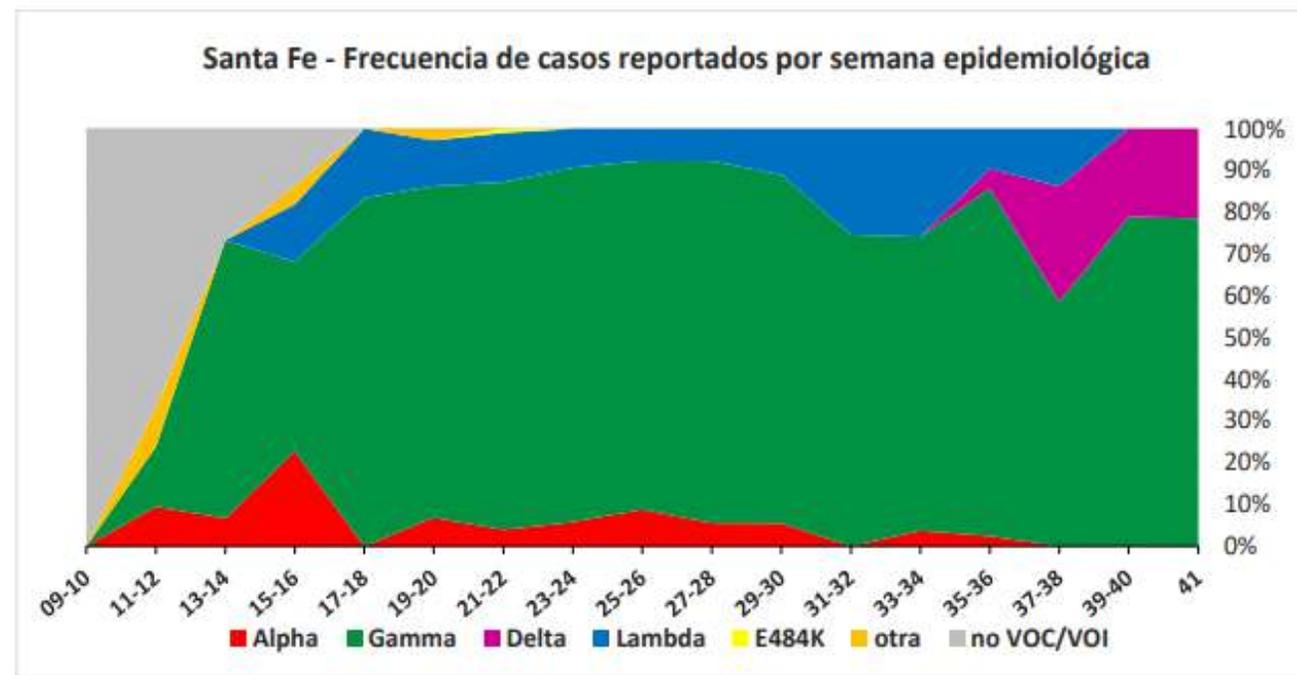
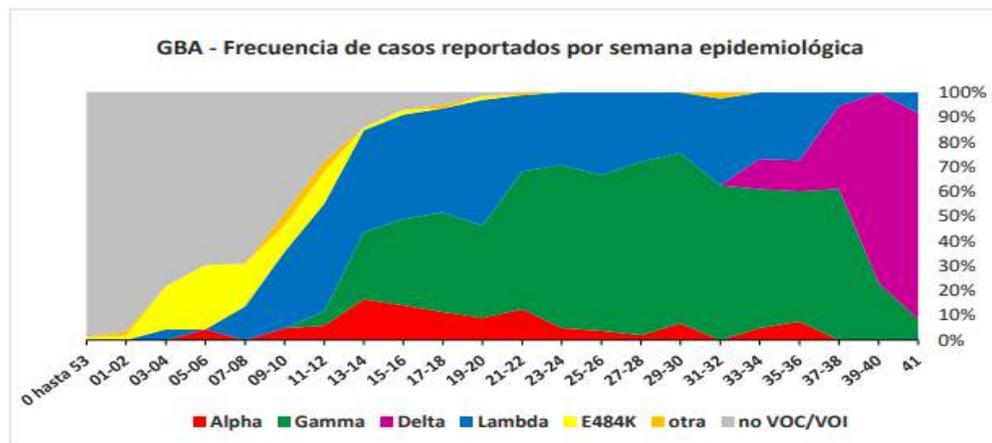
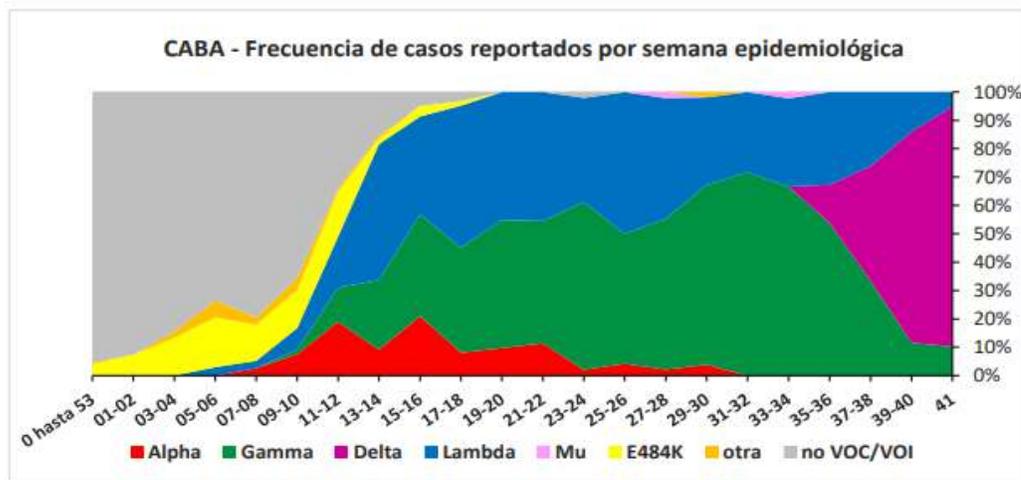


VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE VARIANTES



DATOS DE PROYECTO PAIS

<http://pais.qb.fcen.uba.ar/>



Base de datos de registro de secuencias
- GISAID
- NEXTRAIN



¡Muchas gracias!

jsfalcin@cibic.com.ar



www.heritas.com.ar



info@heritas.com.ar



[.Héritas](#)



[HeritasArg](#)