



Prueba **RT-PCR**

Prepacol
S.A.S

¿Qué es RT- PCR?

El examen RT PCR para SARS Cov-2 (COVID-19) es el examen confirmatorio que permite detectar la presencia del coronavirus en muestras respiratorias.

¿A qué pacientes se le ofrece el servicio?

Todo paciente que cuente con una remisión de EPS y paciente particular ambulatorio que presente una solicitud médica del examen ya que según lineamientos actuales del ministerio de salud debe haber una valoración médica inicial para la definición de caso y diligenciar la ficha epidemiológica.

Condiciones del paciente: Ninguna

¿Dónde se ofrece el servicio de toma de muestra?

El responsable de la toma de la prueba, su lectura, protocolos médicos y de información es el centro médico Clínica Nuevo Monterrey Nit 901292442

Código de habilitación DHS886469

Tipos de muestras:

Para pacientes ambulatorios o sin complicaciones nasales se toma hisopado nasofaríngeo. En caso de presentar obstrucciones nasales o similares se puede tomar orofaríngeo. Para pacientes hospitalizados la muestra indicada a tomar es aspirado nasofaríngeo o lavado de vías respiratorias inferiores.

Condiciones de la muestra: Refrigerada 3 días.

Días de montaje: Lunes a sábado.

Oportunidad de entrega de resultado:

48 horas después de llegada la muestra al laboratorio.

Personal autorizado para tomar la muestra de hisopado:

Personal de salud Bacteriólogas, Auxiliares, Enfermeras jefe, Médicos que cuenten con entrenamiento y acceso a un instructivo.

Elementos de protección personal:

El personal debe hacer correcto uso de los EPP y las normas de bioseguridad; bata, guantes, tapaboca N95, careta o monogafas y gorro.

Elementos para la toma de muestra:

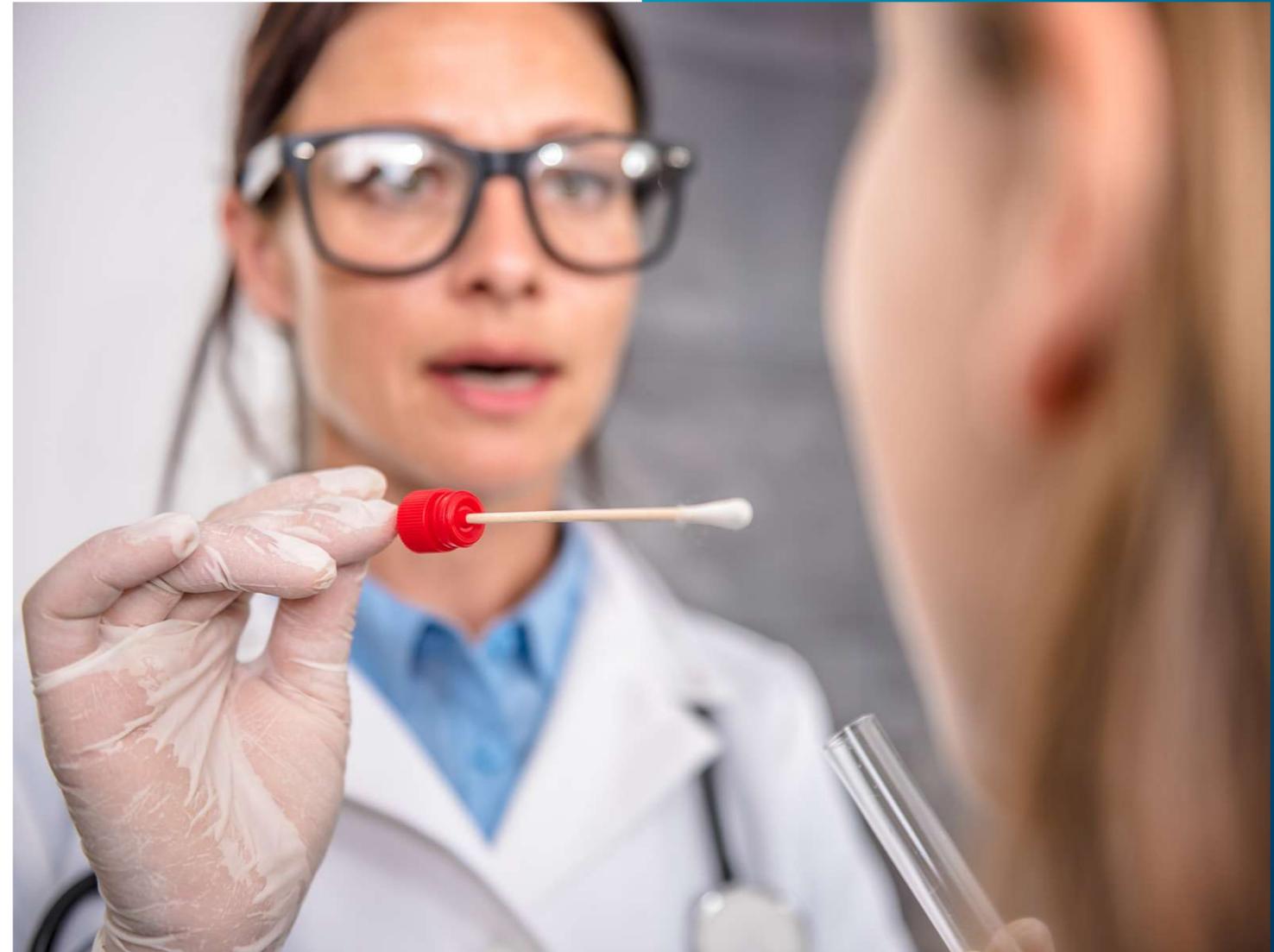
- Vial del medio de transporte viral.
- Hisopo de punta de dacrón o rayo.
- Baja lenguas (muestra orofaríngea)

Datos obligatorios para el cargue de resultados al INS

El personal de toma de muestras y/ o médico debe garantizar la información durante el proceso de entrevista para el cumplimiento de este requisito.

Tipo de caso	Alfabético	Si	I: Importado / R: Relacionado
Nombre	Alfabético	Si	Nombre del paciente
Sexo	Alfabético	Si	M/F
Edad	Numérico	Si	Edad numérica
Viajero	Alfabético	Si	SI/NO
Departamento	Numérico	Si	Código del DIVIPOLA
Municipio	Numérico	Si	Código del DIVIPOLA
IPS	Numérico	Si	Código de la habilitación de la IPS
Vivo	Numérico	Si	1: Vivo / 0: Muerto
Resultado	Alfabético	Si	P: Positivo / N: Negativo
Fecha toma de muestra	Fecha	Si	DD/MM/YYYY
Fecha recibo	Fecha	Si	DD/MM/YYYY
Hora recibo	Hora	Si	Hh24:MI
Fecha procesamiento	Fecha	Si	DD/MM/YYYY
Hora procesamiento	Hora	Si	Hh24:MI
Fecha documento	Fecha	No	DD/MM/YYYY
Hora documento	Hora	No	Hh24:MI
Envió documento	-----	-----	-----
Dirección	Alfanumérico	Si	Dato nuevo
País de procedencia	Alfabético	No	Dato nuevo

Procedimiento de toma de muestra hisopado nasofaríngeo



- Realizar el protocolo de saludo.
- Marcar el vial del medio de transporte viral con los nombres, número de identificación del paciente, tipo de muestra y fecha de toma de muestra.
- Insertar el hisopo por la fosa nasal paralela al paladar, a lo largo del tabique nasal, deslizarla por la mucosa del piso de la fosa nasal hasta tocar la parte posterior de la faringe.
- Frotar la zona del naso faringe rotando el hisopo para obtener celularidad por 10–15 segundos.
- Retirar lentamente el hisopo con movimientos circulares para obtener secreciones.
- Colocar el hisopo en el vial del medio de transporte viral y doblar el mango del hisopo hasta fracturarlo ayudándose con la pared del vial (mantener la abertura lejos del rostro).
- Tapar el vial y realizar el respectivo embalaje.
- Desvestir los EPP, desecharlos y realizar el lavado de manos y rostro.

Procedimiento de toma de muestra hisopado orofaríngeo



- Realizar el protocolo de saludo.
- Marcar el vial del medio de transporte viral con los nombres, número de identificación del paciente, tipo de muestra y fecha de toma de muestra.
- Solicitar al paciente que abra la boca y saque la lengua y solicite que diga la letra "a" constantemente para mantener la faringe cerrada.
- Con la ayuda de un baja lenguas, presionar hacia abajo para evitar la contaminación que de ella derive.
- Tomar el hisopo y colocarlo en la parte posterior y superior de la faringe.
- Colocar el hisopo en la parte posterior de las tonsilas (amígdalas) y rotar hacia arriba y abajo con el fin de obtener celularidad.
- Retirar el hisopo cuidando no contaminarlo con la cavidad oral.

- Colocar el hisopo en el vial del medio de transporte viral y doblar el mango del hisopo hasta fracturarlo ayudándose con la pared del vial (mantener la abertura lejos del rostro).
- Tapar el vial y realizar el respectivo embalaje.
- Desvestir los EPP, desecharlos y realizar lavado de manos y rostro.

Toma de muestra aspirado nasofaríngeo/ lavado bronco alveolar

La toma de este tipo de muestras no es competencia del laboratorio clínico ni del servicio de toma de muestras, por lo que los protocolos para tomar estas muestras serán los definidos en el manual de procedimientos de cada entidad y/o institución que la tome.

Para recolectar el material de aspirado se puede contar con un tubo estéril en su interior sin aditivos y recolectar allí el aspirado o se puede emplear el tubo en el que se tiene el medio de transporte viral que se provea, en este caso el contenido del tubo, es decir, el medio se puede descartar y allí en este tubo recolectar el aspirado.

Embalaje primario

El primer embalaje corresponde al contenedor primario de la muestra, para este caso es el vial de transporte viral, el recolector del aspirado o del lavado. Este primer embalaje se debe cubrir o envolver en algún material absorbente que pueda contener la muestra en caso de derrame



Embalaje secundario

Contenedor rígido resistente a un impacto que proteja la muestra en donde se guardara el primer embalaje ya envuelto; este contenedor permite proteger el primer embalaje de posibles maniobras que puedan causar un derrame o fractura de este primer contenedor de la muestra. Este debe estar completamente sellado e identificado. Para este embalaje sugerimos utilizar recipientes para toma de muestras para baciloscopias o frascos de los utilizados para recolección de orina.



Embalaje terciario

Contenedor en el cual se transportará la muestra al destino final, en el caso de los mensajeros corresponde a sus respectivas neveras de transporte. El laboratorio realizará el envío a la central de procesamiento en las neveras de icopor con pilas refrigeradas.



Conclusiones

- Recordar que la toma de muestras se debe realizar luego de la valoración médica y de la definición del caso y es responsabilidad del médico o la entidad remitente el diligenciamiento y entrega de la ficha epidemiológica.
- Para la toma de muestra el personal no debe llevar ningún tipo de joya o accesorio (anillos, pulseras, manillas, aretes, entre otros).
- Cada muestra debe tener su propio embalaje secundario.
- Recuerde marcar el embalaje primario y secundario.
- El contenedor secundario se debe cerrar e inmediatamente se debe higienizar con alcohol el exterior del recipiente (dejar actuar y secar) y luego se debe desechar los EPP; de esta manera evitamos seguir manipulando el contenedor secundario con los guantes contaminados y protegemos también a cualquier personal que pueda manipular este contenedor secundario.

- Cuando se introduzca la sonda en el recipiente primario y se expulse el contenido del aspirado, el INS recomienda incluir la punta de la sonda en el contenedor; para esto se debe cortar la sonda con unas tijeras que previamente deben haber sido limpiadas con alcohol cuidadosamente al inicio del procedimiento y que deben descontaminarse luego de su uso.
-

GeneFinder™ COVID-19 PLUS RealAmp kit used in association with ELITE InGenius® – Code: IFMR-45

A: Intended use

The GeneFinder™ COVID-19 PLUS RealAmp Kit is used for the Qualitative detection of SARS-CoV-2 virus, COVID-19 disease, through Reverse Transcription and Real-Time Polymerase Chain Reaction from RNA. The assay is compatible in combination with the instrument ELITE InGenius®

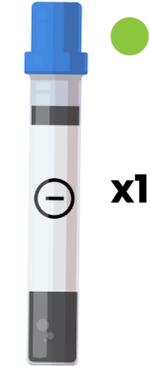
B: Amplified sequence

	Gene	Fluorophore
Target #1	RdRp gene	FAM
Target #2	E gene	Texas Red
Target #3	N gene	JOE
Internal Control (endogenous)	Rnase P gene	Cy5

C. Matrixes

› Alveolar Lavage Fluid (BAL)	Nasopharyngeal swabs (NPS)	Sputum
-------------------------------	----------------------------	--------

D. Kit content

COVID-19 PLUS Reaction Mixture (Purple)	COVID-19 PLUS Probe Mixture (Brown)	COVID-19 PLUS Positive Control (Red)	COVID-19 PLUS Negative Control (Green)	Maximum Shelf-life: 12 Months
				<p>Storage Temperature: -20°C</p>
<p>Reaction Mixture 1 tube of 1,050 µL 85 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles</p>	<p>Probe Mixture 1 tube of 550 µL 85 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles</p>	<p>Positive Control 1 tube of 50 µL 10 freeze-thaw cycles 8 tests per Kit</p>	<p>Negative Control 1 tube of 50 µL 10 freeze-thaw cycles 8 tests per 1 Kit</p>	<p>Transfer the controls in a 0,5 mL Sarstedt tube (Ref. 72730005)</p>

E. Master Mix Preparation

Reagent	1 Test	Samples N.	Total reactions
COVID-19 PLUS Reaction Mixture	10 µL	1 to 4	N + 1 rxn
COVID-19 PLUS Probe Mixture	5 µL	5 to 8	N + 2 rxn
Total volume	15 µL	9 to 12	N + 3 rxn

**Prepare the Mastermix
in a 2 mL Sarstedt tube
(Ref. 72694005)**

F. Material required not provided in the kit

ELITE InGenius instrument:	INT030
ELITE InGenius SP200 Extraction Cartridge:	INT032SP200
ELITE InGenius PCR Cassette:	INT035PCR
ELITE InGenius SP200 Consumable Set:	INT032CS
ELITE InGenius Waste Box:	F2102-000
Filter Tips 300:	TF-350-L-R-S
Sarstedt 0,5 mL Microtube, PP	72730005
Sarstedt 2 mL Microtube, PP	72694005

G. ELITe InGenius protocol

Sample volume	200 μ L
Total eluate volume	100 μ L
PCR eluate input volume	5 μ L
Complete PCR Mix volume	15 μ L
Frequency of controls	15 days

H. Result Interpretation

RdRP	E	N	Result
+	-	+	SARS-CoV-2 positive
+	+	-	
+	+	+	
+	-	-	Repeat to confirm Positive
	+	+	
	-	+	
	+		SARBeCoV

I. Performance

LoD (PCR)

10 copies (RdRp, E, N gene)

Reproducibility

CV < 5%

Repeatability

CV < 5%

J. Tube type collection

Copan Ref	Description
608CS01R	eNAT Swab*
359C	UTM Swab

*The eNAT medium contains guanidine thiocyanate

Note: Not use the Swab tube as primary tube but transfer 200 µL of sample into sonicator tube.

K. Sample Pretreatment (optional)

Sample inactivation is not required as shown in WHO guideline. The sample can be pretreated with guanidine thiocyanate or other lysis buffers under a Biosafety cabinet of class II (BSC2)

- Dispense 200 μ L of sample into the sonicator tubes
- Add 150 μ L of buffer containing denaturants
- Cover the sonicator tube with the cap
- Load the sample into the instrument removing the caps

Note: This procedure needs to be validated as per WHO guidelines

L. Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational modes are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius Identification with username and password Select the mode "Open"	Verify controls: COVID positive and negative controls in the "Control menu" NB: Both had to be run, approved and not expired	2. Thaw the COVID-19 PLUS reagent tubes. Vortex gently and spin down 5 secs Prepare the complete Master Mix as shown in the section E
--	--	--

Procedure 1 – Complete run: Extraction + PCR

1. Select “Perform Run” on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, eluate: “100 µL”	3. Scan the sample barcodes with handheld barcode reader or type the sample ID
4. Select the “Assay protocol” of interest	5. Select the sample position: Primary tube or sonication tube	6. Load the complete Master Mix in the inventory block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip and sample collected into sonicator tubes. For Swab use see J For inactivation step see K	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results For result interpretation see H

Procedure 2 – PCR only

1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol “PCR only” and set the sample position “Extra tube”	6. Load the extracted nucleic acid tubes in the rack n°4
7. Load the PCR cassette rack Load the Q-PCR Mix in the inventory block	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 3 – Extraction only

1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol “Extraction Only” and set the sample position: Secondary tube	6. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, sonication tube and primary sample racks
8. Close the door Start the run	9. Archive the eluate sample	

Prepacol
S.A.S