

Resumen #1644

Comparación de las técnicas Inmunofluorescencia directa y Biología molecular RT-PCR para detección de SARS-CoV-2 a partir de muestras de pacientes Covid-19

¹Bravo M M, ¹Pérez I N, ¹Herrera Simó C, ¹Frutos M C, ²Rodriguez Lombardi G R, ³López A, ¹Adamo M P, ¹Cámara A

¹Instituto de virología "J.M.Vanella"(FCM-UNC); ²Laboratorio de Hemoderivados (UNC); ³Hospital Regional"Dr. Arturo U. Illia" Alta Gracia

Resumen:
SARS-CoV-2 causa la

Persona que presenta: Bravo M M, milibra97@gmail.com **Área:** Epidemiológica / Salud Pública **Disciplina:** Infectología, inflamación e inmunología **enfermedad COVID-19,** siendo importante su detección temprana. Ante SARS-CoV-2 endémico, es necesario una técnica clásica para el tamizaje inicial en el diagnóstico diferencial. Previamente reportamos el desarrollo de un método de detección basado en la determinación antígeno viral por inmunofluorescencia (IFD). En este trabajo comparamos resultados de esta metodología artesanal para fines diagnósticos con los obtenidos por método molecular comercial (RT-PCR en tiempo real).

Se analizaron 174 secreciones nasofaríngeas de hisopados de pacientes adultos con síntomas Covid-19. Fueron 115 positivos por RT-PCR (DisCoVery) y 59 negativos. A partir de dichas muestras se realizaron 224 improntas de células epiteliales respiratorias, con las que se estandarizó la técnica de IFD, utilizando anticuerpos primarios policlonales y monoclonales (suero polyclonal humano post-infección/SP, fracción de gammaglobulina polyclonal/GP y anticuerpos monoclonales/MAB anti-N y anti-RBD, con los correspondientes anticuerpos secundarios/conjugados marcados con fluoresceína). Se probaron 33 improntas por anticuerpo primario. Se determinaron sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la técnica IFD utilizando el programa estadístico R-medic.

Las imágenes de fluorescencia resultantes de la aplicación de la técnica con anticuerpos mono y policlonales sobre las improntas de los pacientes positivos por RT-PCR fueron similares y mostraron el patrón de fluorescencia esperado. Para SP la sensibilidad fue 82%, especificidad 64%, VPP 82% y VPN 64%. Para GP, sensibilidad 85%, especificidad 67%, VPP 92% y VPN 50%. Para MAB, tanto anti-N como anti-RBD: sensibilidad 92%, especificidad 78%, VPP 92% y VPN 78%. Los datos mostraron un acierto de relación de 3 positivos por RT-PCR a 1 o 2 por IFD.

En conclusión, la técnica de IFD desarrollada podría ser implementada satisfactoriamente para la detección como alternativa de tamizaje inicial. Además, demuestra que este desarrollo, de un método diagnóstico clásico directo de SARS-CoV-2 por IFD no sólo aporta a la detección en Salud pública, sino que, en el contexto ecológico mundial del cuidado del ambiente, se respetan los objetivos de desarrollo sostenible como el ODS 3 referido a garantizar la Salud y el ODS 12 propiciando la producción y consumo sostenible (NU, ODS, 2022)

Palabras Clave: Comparación metodológica; SARS-CoV 2; IFD; RT-PCR; Córdoba.

 PDF versión

 Versión para impresión |

Abstract #1644

Comparison of direct immunofluorescence and molecular biology RT-PCR techniques for detection of SARS-CoV-2 from Covid-19 patient samples

¹Bravo M M, ¹Pérez I N, ¹Herrera Simó C, ¹Frutos M C, ²Rodriguez Lombardi G R, ³López A, ¹Adamo M P, ¹Cámara A

¹Instituto de virología "J.M.Vanella"(FCM-UNC); ²Laboratorio de Hemoderivados (UNC); ³Hospital Regional"Dr. Arturo U. Illia" Alta Gracia

Abstract:
SARS-CoV-2 causes COVID-19 disease, and

Persona que presenta: Bravo M M, milibra97@gmail.com early detection is important. In the presence of endemic SARS-CoV-2, a classical technique is necessary for initial screening in the differential diagnosis. We previously reported the development of a detection method based on the determination of viral antigen by

immunofluorescence (IFD). In this work we compare results of this artisanal methodology for diagnostic purposes with those obtained by commercial molecular method (real-time RT-PCR).

A total of 174 nasopharyngeal secretions from swabs of adult patients with Covid-19 symptoms were analyzed. There were 115 positive by RT-PCR (DisCoVery) and 59 negative. From these samples, 224 respiratory epithelial cell imprints were made, with which the IFD technique was standardized, using polyclonal and monoclonal primary antibodies (post-infection human polyclonal serum/SP, polyclonal gamma globulin fraction/GP and anti-N and anti-RBD monoclonal/MAB antibodies, with corresponding fluorescein-labeled secondary/conjugated antibodies). Thirty-three imprints were tested per primary antibody tested. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of the IFD technique were determined using the statistical program R-medic.

The fluorescence images resulting from the application of the technique with mono- and polyclonal antibodies on the RT-PCR-positive patient imprints were similar and showed the expected fluorescence pattern. For SP, sensitivity was 82%, specificity 64%, PPV 82% and NPV 64%. For GP, sensitivity 85%, specificity 67%, PPV 92% and NPV 50%. For MAB, both anti-N and anti-RBD: sensitivity 92%, specificity 78%, PPV 92% and NPV 78%. The data showed a ratio of 3 positives by RT-PCR to 1 or 2 by IFD.

In conclusion, the developed IFD technique could be successfully implemented for detection as an initial screening alternative. Furthermore, it demonstrates that this development of a classical direct diagnostic method of SARS-CoV-2 by DIF not only contributes to the detection in public health, but also, in the global ecological context of environmental care, it respects the sustainable development goals such as SDG 3 referred to ensure health and SDG 12 alluding to sustainable production and consumption (UN, SDG, 2022).

Keywords: Methodological comparison; SARS-CoV 2; IFD; RT-PCR; Córdoba