



1587 - DETECCIÓN RÁPIDA DE SARS-COV-2 MEDIANTE RT-LAMP SIN EXTRACCIÓN DE ARN

F. Lara Hernández¹, S. García Sorribes¹, I. Manzano Blasco¹, A. Mulet Arabí², D. Navarro Ortega³, L.S. Briongos Figueroa⁴, J.C. Martín Escudero⁴ y F.J. Chaves Martínez^{1,5}

¹Unidad de Genómica y Diabetes. Instituto de Investigación Sanitaria Clínico de Valencia. INCLIVA. Valencia.

²Servicio de Neumología. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia. ³Servicio de Microbiología.

Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia. ⁴Departamento de Medicina Interna. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. ⁵CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas. CIBERDEM. Madrid.

Resumen

Objetivos: En enero de 2020 se identificó un nuevo coronavirus humano denominado SARS-CoV-2, el cual causó un estado de emergencia en la salud pública mundial. La identificación de los individuos afectados es algo esencial y, por ello, han aparecido muchas técnicas de detección. La técnica de referencia es la RT-qPCR, la cual permite identificar y cuantificar el ARN viral con una alta sensibilidad y especificidad. Alternativamente, han aparecido otras técnicas de detección más rápidas y baratas como las pruebas de antígenos y anticuerpos. No obstante, la especificidad y sensibilidad de estas es limitada. Por ello, nuestro objetivo es desarrollar un *kit point-of-care* para la detección del SARS-CoV-2 basado en la técnica de RT-LAMP, el cual cuente con una alta sensibilidad y especificidad a bajo coste.

Métodos: Inicialmente, se optimizó la técnica RT-LAMP fluorescente y colorimétrica utilizando control sintético de SARS-CoV-2 y ARN humano. Se desarrolló un reactivo de mantenimiento y procesamiento de la muestra para la detección directa del virus, evitando el paso de extracción. Finalmente, la técnica fue validada utilizando 151 muestras positivas y 129 muestras negativas, las cuales incluían muestras bucales, nasales y nasofaríngeas. Durante el proceso, todos los resultados obtenidos se compararon con la técnica RT-qPCR con las muestras extraídas.

Resultados: Hemos desarrollado una prueba de detección de SARS-CoV-2, basada en la técnica RT-LAMP, que permite detectar el virus en 15 minutos con el método fluorescente y en 30 minutos mediante colorimetría, alcanzando una sensibilidad de hasta 10 copias cuando se trabaja con ARN sintético del virus. Hemos desarrollado un procedimiento que permite la inactivación y preservación del virus, sin necesidad de extraer su material genético. En la validación realizada se ha obtenido una sensibilidad y especificidad del 100% en muestras con carga viral por encima de las 150 copias por reacción.

Conclusiones: El *kit* desarrollado permite evitar el paso de extracción del material genético del virus, y su posterior detección en 15 minutos mediante fluorescencia y 30 minutos de forma visual mediante un cambio de color, con una alta sensibilidad y especificidad. Se trata de una técnica rápida, sencilla, que no requiere de equipamiento complejo, de bajo coste y con una sensibilidad

muy elevada (con o sin extracción del RNA) superior a la de otros sistemas de detección en uso. Esto permitiría su uso como alternativa a la RT-qPCR en distintos puntos de atención sanitaria para controlar los contagios, y de este modo, la expansión del virus.

Bibliografía

1. Notomi T, et al. Notomi et al LAMP.pdf. Nucleic Acids Res. 2000;28:e63.