

## COMUNICACIÓN CORTA

## Comparación de 3 kits de real time RT-PCR para detección de SARS-CoV-2

Moré G<sup>1,2,\*</sup>, Tizzano MA<sup>2</sup>, Rambeaud M<sup>2</sup>, Panei CJ<sup>1,2</sup>, Fuentealba N<sup>1,2</sup>, Aspitia C<sup>2</sup>, Bravi ME<sup>1,2</sup>, Origlia J<sup>2</sup>, Rudd Garcés G<sup>1,2</sup>, Golijow C<sup>2</sup>, Unzaga JM<sup>2</sup>, Pecoraro M<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

<sup>2</sup> Unidad de diagnóstico COVID-19, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Argentina.

\* Correspondencia: Gastón Moré. FCV-UNLP, Calle 60 y 118, S/N, 1900 La Plata, Argentina.

E-mail: [gastonmore@fcv.unlp.edu.ar](mailto:gastonmore@fcv.unlp.edu.ar)

Recibido: 12 Mar 2021. Aceptado: 12 Mayo 2021. Disponible en línea: 8 Julio 2021

Editor: P. Beldomenico

**RESUMEN.** El objetivo de este trabajo fue analizar la performance de 3 kits comerciales de *real time* RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2 en muestras de hisopados nasofaríngeos, mediante el criterio de mayoría. Se seleccionaron 100 muestras de ARN informadas en el SISA como detectables (n=50) o no detectables (n=50) con el *GeneFinder-COVID-19 Plus RealAmp*, que fueron posteriormente analizadas mediante el *BGI-Real-Time Fluorescent for Detecting SARS-CoV-2* y el *DisCoVery-SARS-CoV-2 RT-PCR*. Los niveles de concordancia fueron de buenos a excelentes; *GeneFinder* y *DisCoVery* presentaron sensibilidad del 100%, mientras que *BGI* presentó una sensibilidad menor al 90%. Se analizaron los productos de 10 muestras discordantes o dudosas mediante electroforesis en gel de agarosa. Se confirmaron 3 muestras como falsos negativos del *BGI* y 5 muestras detectables sólo al *DisCoVery* podrían tratarse de verdaderos positivos. El uso de los kits *DisCoVery* y *GeneFinder*™ se presenta como una excelente opción, con buenos valores de sensibilidad y especificidad.

**RESUMEN. Comparison of 3 real time RT-PCR kits for SARS-CoV-2 detection.** The objective of the present study was to evaluate the diagnostic performance of 3 commercial SARS-CoV-2 real time RT-PCR detection kits on nasopharyngeal swab samples, using the majority criterion. One hundred RNA samples informed as detectable (n=50) and not detectable (n=50) with *GeneFinder-COVID-19 Plus RealAmp* were selected, and later analyzed with *BGI-Real-Time Fluorescent for Detecting SARS-CoV-2* and *DisCoVery-SARS-CoV-2 RT-PCR*. Agreement between tests was almost perfect; sensitivity was 100% for *GeneFinder* and *DisCoVery* and less than 90% for *BGI*. Real time PCR products from 10 discordant samples were further analyzed by agarose gel electrophoresis, confirming 3 false negatives by *BGI* and suggesting 5 samples as true positives by *DisCoVery*. The use of *DisCoVery* and *GeneFinder*™ appear as an excellent choice with good sensitivity and specificity values.

*Palabras clave:* Diagnóstico molecular, *GeneFinder*, *BGI*, *DisCoVery*, SARS-CoV-2

*Keywords:* Molecular diagnosis, *GeneFinder*, *BGI*, *DisCoVery*, SARS-CoV-2.

### Introducción

La pandemia de la COVID-19 ha planteado un difícil escenario para la salud pública global, por lo cual se diseñaron y aprobaron, de modo rápido y excepcional, una gran variedad de métodos de diagnóstico (Shi et al., 2020;

<https://www.argentina.gob.ar/anmat/regulados/productos-medicos/reactivos-covid-19#1>). Los más difundidos son los de detección directa del genoma viral mediante transcripción reversa y amplificación por PCR en tiempo real (*real time* RT-PCR). Los *targets* identificados como específicos de SARS-CoV-2, consisten en fragmentos del ARN codificante para proteínas no estructurales como

la polimerasa dependiente de ARN (RdRp) incluida en el *Open Reading Frame 1ab* (ORF1ab), y de las proteínas estructurales de las espículas o *spike* (S), de envoltura (E), de membrana (M) y las nucleoproteínas (N) (Corman et al., 2020; Lu et al., 2020; Shi et al., 2020; Ye et al., 2020).

Si bien la situación de emergencia sanitaria obligó a dar respuestas inmediatas con escasa contrastación de resultados entre laboratorios, es necesaria la validación, comparación de diferentes tests de diagnóstico molecular y la determinación de los límites de detección (LOD) para brindar resultados confiables y reproducibles (Lu et al., 2020; Moore et al., 2020; Shi et al., 2020). En

particular, son deseables las comparaciones y ajustes tendientes a minimizar la proporción de falsos negativos y las determinaciones de LOD (Shi et al., 2020; Watson et al., 2020).

## Materiales y métodos

A los fines de proporcionar información comparativa se analizó la performance de 3 kits comerciales diferentes.

1- **GF**= GeneFinder™ COVID-19 Plus RealAmp kit (OSANG Healthcare, Corea del Sur; Instrucciones en [http://www.osanghc.com/en/customer\\_en/archive/?pageid=1&mod=document&keyword=COVID&uid=51](http://www.osanghc.com/en/customer_en/archive/?pageid=1&mod=document&keyword=COVID&uid=51)).

2- **BGI**= Real-Time Fluorescent RT-PCR Kit for Detecting SARS-CoV-2 (BGI, China; Instrucciones en <https://www.bgi.com/us/wp-content/uploads/sites/2/2020/04/BGI-Amended-EUA-SARS-CoV-2-Detection-Kit.pdf>).

3- **AP**= DisCoVery SARS-CoV-2 RT-PCR detection kit Cy5 (AP-Biotech, Argentina; fabricante Safecare Biotech Hangzhou Co. Ltd., China; Instrucciones en <https://apbiotech.com.ar/apb-cov19r2.html>).

En el resto del documento se utilizará la sigla en negrita para referir a cada kit utilizado. Las características generales de cada uno y las condiciones de amplificación e interpretación vigentes al momento de su utilización están resumidas en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Desempeño de los 3 kits comerciales de real time RT-PCR para detectar SARS-CoV-2 en el ciclador MIC QCyCler (Bio Molecular Systems).

Kit	GF	BGI	AP
<b>Targets virales (sonda)</b>	3= N (JOE); RdRp (FAM); E (Texas Red)	1= ORF1ab (FAM)	2= ORF1ab (FAM); N (VIC)
<b>Control interno-CI (sonda)</b>	RNAsa P humana (Cy5)	β-actina (VIC)	RNAsa P humana (Cy5)
<b>Programa</b>	1 ciclo: 50°C, 20 min 1 ciclo: 95°C, 5 min 45 ciclos: 95°C 15 s; 58°C 60 s	1 ciclo: 50°C, 20 min 1 ciclo: 95°C, 10 min 40 ciclos: 95°C 15 s; 60°C 30 s	1 ciclo: 50°C, 5 min 1 ciclo: 95°C, 1 min* 45 ciclos: 95°C 5 s; 60°C 34 s
<b>Duración en ciclador</b>	1 h 58 min	1 h 30 min	1 h 10 min
<b>ARN en reacción (μl)</b>	5	10	5
<b>Volumen final (μl)</b>	20	30	25
<b>Muestra reactiva (Ct)</b>	CI<35; RdRp, E y/o N <43	CI<35; ORF1ab <37	CI, ORF1ab y/o N <38

\* el proveedor indica 30 s

Para analizar el desempeño de los kits comerciales se seleccionaron 100 muestras de ARN extraídas de hisopados nasofaríngeos recibidos durante los meses de junio, julio y agosto de 2020, provenientes del Dispositivo Estratégico de Testeo para Coronavirus en Territorio de Argentina (DETECTAR; <https://www.argentina.gob.ar/coronavirus/detectar>) e instituciones privadas de las regiones sanitarias VI y XI de la provincia de Buenos Aires, en el marco del convenio específico entre la Universidad Nacional de La Plata y el Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires (CONVE-2020-06345305-GDEBA-MSAL-GP). La extracción de ARN se realizó en cabina de seguridad tipo II utilizando el Virus DNA/RNA Extraction Kit II (Geneaid Biotech, Taiwan) de acuerdo a las instrucciones del fabricante, con un volumen final de elución de 50 μl. Luego, las muestras fueron procesadas de inmediato con el GF (procesadas e informadas como parte de las rutinas diagnósticas) y preservadas a -70°C hasta su procesamiento con el BGI y posteriormente con el AP. Para la selección de muestras se consideró que evidenciaran reacción al control interno y que, según el resultado inicial con el GF, fueran informadas detectables (n= 50) o no detectables (n= 50) en el Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentina (SISA; <https://sisa.msal.gov.ar/sisa>), de acuerdo a las especificaciones del fabricante. La proporción de cada categoría se fijó en el 50 %, emulando los porcentajes de detección reportados entre junio y noviembre 2020 en el AMBA y nuestros propios datos (Moré et al., 2020).

Todas las muestras fueron procesadas utilizando los programas y recomendaciones de cada proveedor (Tabla 1), utilizando el equipo MIC qCyCler de 48 microtubos específicos de 0,1 ml y su respectivo software de análisis (Bio Molecular Systems, Australia). Cada rutina de real time RT-PCR se llevó adelante con los controles positivo y negativo provistos por cada kit y lote respectivo. Todas las muestras evidenciaron reacción para los controles internos de los 3 kits.

Para el análisis se consideró el criterio de mayoría (en ausencia de gold standard), considerando las muestras como “verdadero positivo (+)” y “verdadero negativo (-)” con resultados coincidentes en al menos 2 tests.

Se utilizaron las funciones “Concordancia entre pruebas” y “Evaluación de prueba” del sitio Working in Epidemiology ([www.winepi.net](http://www.winepi.net)) para establecer la performance comparativa mediante las determinaciones de valor Kappa o “agreement” y sensibilidad y especificidad, valor predictivo positivo y negativo y fiabilidad, respectivamente. En todas las comparaciones se utilizó el valor de mayoría como referencia y se fijó un nivel de confianza del 95%.

Del total de muestras se seleccionaron 10 muestras con resultados que no coincidieron con el criterio de mayoría o dudosos con alguno de los kits, y fueron identificadas como “discordantes” (ID de muestra resal-

tado en negrita y número correlativo en paréntesis en Tabla 2). Los productos de PCR con el kit **AP** fueron analizados en un gel de agarosa al 3% en buffer TBE teñido con SYBR *safe* (Invitrogen). Se sembró el volumen total de reacción (25 µl) de cada muestra, se realizó la electroforesis por 1h 15min (120 V, 100 mA) y se observó en un transiluminador de luz azul (Invitrogen).

**Tabla 2.** Resultados expresados en *Cycle Threshold* (Ct) para cada *target* de cada test. Ref. Los números se refieren a los Ct obtenidos para los *targets* de cada kit. En caso de observarse sólo reacción a algún *target* se indicó con la letra correspondiente al mismo. Las celdas coloreadas indican discrepancia con la mayoría o resultados “dudosos”. - = No reactiva; (-)= verdadero negativo; (+)= verdadero positivo; **VPP**: valor predictivo positivo; **VPN**: valor predictivo negativo. Las muestras con ID en negrita y número correlativo corresponden a las analizadas por electroforesis (Figura 1). Las muestras que presentaron Cts cercanos a los valores de referencia a un único *target* viral con los kits **GF** y **AP**, fueron reprocesadas con el mismo kit. En todos los casos se obtuvieron resultados concordantes con +/- 0,5 Ct en relación al resultado inicial.

ID Muestra	GF (N-E-R)	BGI (ORF)	AP (N-ORF)	Mayoría
289	N 37	36	N 36,5	(+)
290	N 38	37	N 37,5	(+)
327	N 39	35	34,5-35	(+)
431	N 39,5	-	-	(-)
453	N 40	35,5	35,5-37,5	(+)
481	N 37	36,5	36-37,5	(+)
735	N 34-R 36	36	32-34	(+)
818	N 35	34	31-34	(+)
826	32-33-33	28,5	28-31	(+)
1154	29-30-31	28	27-31	(+)
1122	N 36,5-R 39,5	34	34,5-36	(+)
1282	-	-	-	(-)
1283	-	-	-	(-)
1284	-	-	-	(-)
1285	-	-	-	(-)
1286	-	-	-	(-)
1293	-	-	-	(-)
1304	N 37-R 38	36,5	34,5-37	(+)
1305	N 39,5	-	N 37,5	(+)
1307	-	-	-	(-)
1343	-	-	N 37,5	(-)
1344	-	-	-	(-)

**Tabla 2.** (continuación)

1345	-	-	-	(-)
1454	N 34-R 36	37	31,5-30,5	(+)
1918	-	-	-	(-)
1919	16-17-18	15,5	16-18	(+)
1920	-	-	-	(-)
1921	-	-	-	(-)
1922	-	-	-	(-)
1923	-	-	-	(-)
1924	-	-	-	(-)
1925	-	-	-	(-)
1926	-	-	-	(-)
1927	-	-	-	(-)
1928	32,5-39-35	32	31-34	(+)
1929	-	-	-	(-)
1930	N 34,5-R 37	34,5	32,5-35,5	(+)
<b>1931 (1)</b>	N 40	-	N 37	(+)
1932	-	-	-	(-)
<b>1933 (2)</b>	N 40	-	N 36	(+)
1934	-	-	-	(-)
1935	31-32-32	30	29,5-32	(+)
1936	-	-	-	(-)
1937	-	-	-	(-)
1938	-	-	-	(-)
1939	-	-	-	(-)
1940	-	-	-	(-)
1941	27-28,5-29	26,5	26,5-29	(+)
1942	21,5-23-23,5	21	21-24,5	(+)
1943	22-22,5-23	20	20,5-23,5	(+)
1944	-	-	-	(-)
1945	-	-	-	(-)
1946	-	-	-	(-)
1947	-	-	-	(-)
1948	-	-	-	(-)
1949	-	-	-	(-)
1950	-	-	-	(-)
1951	-	-	-	(-)
1952	-	-	-	(-)

Tabla 2. (continuación)

1953	-	-	-	(-)
1954	13-13-15,5	12,5	12,5-15,5	(+)
1955	20-20,5-21,5	18,5	19-21	(+)
1956	-	-	-	(-)
1957 (3)	-	-	34,5-35,5	(-)
1958	-	-	-	(-)
1959 (4)	-	-	N36,5	(-)
1960	14-15,5-16,5	16	14-17	(+)
1961 (5)	N 32,5-R 37	-	32,5-35	(+)
1962 (6)	-	-	32,5-35,5	(-)
1973	N 37-R 38	36,5	33,5-35	(+)
1975	25-23,5-25	22,5	21-23,5	(+)
1977	31,5-29-30,5	29	27-29,5	(+)
1978	31,5-30,5-32	30	28,5-31	(+)
1980	22,5-20,5-22	20	18-20,5	(+)
1981	16,5-16,5-18	16,5	13,5-18	(+)
1982	22,5-21-22	20	18-21,5	(+)
1983	-	-	-	(-)
1984	22,5-20,5-22,5	20	18,5-21	(+)
1985	20-19-20,5	18,5	16,5-19,5	(+)
1986 (7)	-	-	36,5-37,5	(-)
1987	-	-	-	(-)
1988	17-16,5-18,5	17	14-17,5	(+)
1989	19,5-18,5-21	18,5	16-19,5	(+)
1990	33,5-33,5-35,5	33	29,5-33	(+)
1991 (8)	-	-	30-33	(-)
1992	-	-	-	(-)
1993	28-25,5-27,5	25	23,5-26	(+)
1994	34,5-33,5-34,5	32,5	30,5-33,5	(+)
1995	-	-	-	(-)
1996	24-21,5-23	21	19,5-22	(+)

Tabla 2. (continuación)

1997 (9)	-	-	N38,5?	(-)
1998	-	-	-	(-)
1999	20-17,5-19,5	17,5	15,5-18	(+)
2000	19,5-16,5-18,5	16	15-17	(+)
2001	27-25-26,5	24,5	23-25,5	(+)
2002	34-32,5-34	31,5	30-32	(+)
2003 (10)	N 38,5-R 38	-	33,5-34,5	(+)
2004	N 39,5-R 38,5	35	33-34,5	(+)
2005	27-24,5-26,5	24	22,5-25	(+)
2006	21,5-19-21,5	19	17,5-20	(+)
<b>Kappa</b>	0.980	0.900	0.880	
<b>Sensibilidad (%)</b>	100	89.8 (81,3-98,3)	100	
<b>Especificidad (%)</b>	98 (94,2-100)	100	88,2 (79,4-97,1)	
<b>VPP (%)</b>	98 (94,1-100)	100	89,1 (80,9-97,3)	
<b>VPN (%)</b>	100	91,1 (83,6-98,5)	100	
<b>Fiabilidad (%)</b>	99	95	94	

## Resultados y discusión

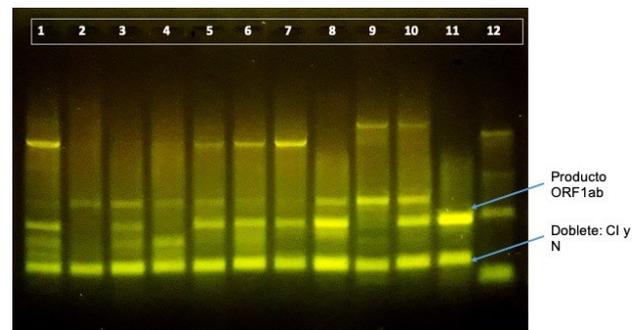
En este estudio comparativo se procesaron 100 muestras mediante 3 kits diferentes, las cuales resultaron según criterio de mayoría en verdaderos positivos (n=49) y verdaderos negativos (n=51) en proporciones similares a las de las rutinas diagnósticas diarias y los reportes regionales para mediados y fines del 2020 (Moré et al., 2020;

<https://ourworldindata.org/grapher/positive-rate-daily-smoothed?tab=chart&country=~ARG>). Los resultados de cada determinación por *real time* RT-PCR, la ponderación por mayoría y los valores de *performance* comparativa de cada kit se muestran en la Tabla 2. En relación a lo informado en el SISA (resultados de rutina con el GF), solo 1 muestra (ID 431) fue no coincidente con el criterio de mayoría ("falso positivo" con GF). Los 3 kits evidenciaron niveles de concordancia de buenos a excelentes ( $Kappa \geq 0.880$ ) en relación a la ponderación de las muestras como positivas y negativas bajo el criterio de mayoría de tests. El GF presentó la mejor concordancia y fiabilidad, seguido por el BGI y por

último en estos valores se ubica el **AP**. Estos resultados están dados por la identificación de 1, 5 y 6 muestras con resultados no coincidentes para los kits **GF**, **BGI** y **AP**, respectivamente. No obstante estos resultados, tanto el kit **GF** como el **AP** evidenciaron una sensibilidad del 100%, mientras que con el **BGI** se obtuvieron 5 falsos negativos, demostrando menor sensibilidad y VPN. Este último *kit* presentó Ct más bajos de su único target, en relación a lo detectado con los otros dos *kits*, sin embargo, requiere el doble de volumen muestra de ARN y en la evaluación presentó una sensibilidad inferior al 90%. Además, este *kit* indica que debe utilizarse la señal del control negativo o “noise”(ruido) para la determinación del umbral, lo que puede resultar en dificultades de lectura e interpretación.

Las 10 muestras “discordantes” seleccionadas, y cuyos productos mediante el kit **AP** se analizaron por electroforesis, fueron identificadas según criterio de mayoría como negativas solo al **BGI** (n = 4; IDs 1931, 1933, 1961 y 2003), positivas solamente con el **AP** (n = 5; IDs 1957, 1959, 1962, 1986 y 1991) y negativa pero con curva de detección del gen N por encima de los valores de corte (n = 1, ID 1997). El detalle de las muestras, los resultados con los diferentes kits y el resultado de la electroforesis se observan en la Figura 1 y en la Tabla 3. Es importante remarcar que los 10 pacientes presentaban 2 o más de los signos considerados relevantes en la definición de caso sospechoso (Moré et al., 2020). La observación de productos de PCR con el kit **AP**, reforzó y confirmó como falsos negativos a 3 muestras negativas solo con el **BGI** (ID 1931, 1961 y 2003), y pone en duda la valoración como “falsos positivos” de algunas muestras detectables solo con el **AP**. La muestra ID 1933 (calle 2 en gel; Figura 1) evidenció reacción a N con Ct 36 pero no generó un claro producto en “doblete” con el control interno, por lo que su valoración como falso negativo del **BGI** no pudo ser confirmada totalmente. Las 5 muestras analizadas por electroforesis e identificadas como “falsos positivos” con el **AP**, presentaron tanto Cts como productos de movilidad relativa en gel acorde a los verdaderos positivos (en especial la muestra 1991, calle 8 en gel). Si consideráramos estas muestras como verdaderos positivos (Cts menores a 38 y con productos observados en gel) mejoraría la performance del kit **AP** y empeoraría drásticamente la sensibilidad del **BGI**, debido a que se sumarían falsos negativos. Considerando que solo se realizó electroforesis a 10 muestras amplificadas con el kit **AP**, no podemos asumir ciertamente si esas muestras corresponden a “verdaderos positivos”, e incluso estaríamos cambiando el modo de valoración propuesto (mayoría) y priorizando el kit **AP** al asumirlo como “gold standard”. Es importante destacar que las muestras fueron congeladas y descongeladas 2 veces antes de ser procesadas con el *kit AP*, lo cual no evidenció problemas en la detección de los verdaderos positivos e incluso detectó estas muestras discordantes. En la observación del gel también se evidenciaron productos diferentes a los del control positivo en algunas muestras. Estos podrían ser

productos inespecíficos, resultado de la amplificación génica de otros agentes, y podrían ser eventuales causales de falsos positivos, sobre todo en *kits* que detectan *targets* únicos (Moore et al., 2020; Shi et al., 2020). En este aspecto, 10/100 muestras presentaron reacción solo a N con el **GF**, 9 de las cuales fueron identificadas como verdaderos positivos. En el caso del *kit AP*, 7/100 muestras resultaron reactivas solo al *target* N, 5 de las cuales se identificaron como verdaderos positivos. Todas las muestras evidenciaron reacción con similares Ct al repetirlas con el mismo *kit*. En base a estos resultados es posible asumir que la mayoría de las muestras reactivas solo al gen N son específicas para SARS-CoV-2, como fuera informado por el INBIRS para el uso del *kit GF* (informe interno, datos sin publicar). En relación a esto, es posible asumir una mayor disponibilidad de los transcritos del gen N en relación a otros *targets*, lo que también explicaría la menor sensibilidad del *kit BGI* que solo tiene el ORF1ab como blanco.



**Figura 1.** Electroforesis de productos de la *real time* RT-PCR utilizando el kit DisCoVery Cy5 (AP-Biotech). **Calle** = ID Muestra-(interpretación en relación a presencia de productos acorde al control positivo): 1 = 1931-(+); 2 = 1933(-); 3 = 1957-(+); 4 = 1959(-); 5 = 1961-(+); 6 = 1962-(+); 7 = 1986(-); 8 = 1991-(+); 9 = 1997(-); 10 = 2003-(+); 11-(Control positivo) y 12-(Control negativo). Las muestras en calles 1 a 11 evidenciaron reacción al control interno (CI). El detalle de resultados de cada *kit* de *real time* RT-PCR de cada muestra se observa en la Tabla 3.

En concordancia con reportes internacionales, es conveniente el uso de *kits* con más de 1 *target* viral, dado que, por posibles mutaciones de los coronavirus en las regiones de unión de *primers* y sondas, podrían detectarse muestras como falsos negativos, independientemente de una eventual mayor sensibilidad analítica o LOD más bajos de *kits* con *target* único (Arevalo-Rodríguez et al., 2020; Corman et al., 2020; Moore et al., 2020, Ramirez et al., 2020). El uso masivo del *kit BGI* podría incrementar el número de “falsos negativos” en proporciones de al menos el 5%, y por consiguiente aumentar el riesgo de transmisión del SARS-CoV-2 de un modo significativo (Watson et al., 2020; Woloshin et al., 2020).

**Tabla 3.** Resumen de los resultados obtenidos para los diversos kits de *real time* RT-PCR utilizados, contrastados con los obtenidos en la electroforesis de productos del kit DisCoVery Cy5 (AP-Biotech) en 10 muestras. \*Se consideró como “+” en gel a la presencia de productos con movilidad relativa comparables a los del control positivo (figura 1). Ref. “-” = no reactiva o negativa.

ID en gel= ID muestra	GF (N-E-R)	BGI (ORF)	AP (N-ORF)	Criterio de Mayoría	Gel*
1 = 1931	N40	-	N37	+	+
2 = 1933	N40	-	N36	+	-
3 = 1957	-	-	N34,5-ORF35,5	-	+
4 = 1959	-	-	N36,5	-	-
5 = 1961	N 32,5-R 37	-	N32,5-ORF35	+	+
6 = 1962	-	-	N32,5-ORF35,5	-	+
7 = 1986	-	-	N36,5-ORF37,5	-	+
8 = 1991	-	-	N30-ORF33	-	+
9 = 1997	-	-	N38,5?	-	-
10 = 2003	N 38,5-R 38	-	N33,5-ORF34,5	-	+

El uso de los *kits* DisCoVery y GeneFinder™ se presenta como una excelente opción, con buenos valores de sensibilidad y especificidad. Si consideramos la contrastación realizada por electroforesis el *kit* DisCoVery presentaría elevada sensibilidad y probablemente mejoraría su especificidad. Además, la corrida en termociclador es de menor duración, y tendría potencialmente un menor costo por tratarse de manufactura China con un proveedor nacional. Sin embargo, la valoración de muestras como verdaderos positivos requiere estudios de secuenciación, repetibilidad en diferentes laboratorios y la eventual comparación con kits con elevada sensibilidad, dado que en nuestro caso el *kit* BGI podría estar alterando la “sensibilidad” del criterio “mayoría”. La determinación de LOD de los kits con más de un *target* viral en los distintos laboratorios de la red de diagnóstico de SARS-CoV-2 en Argentina sería de utilidad para futuras validaciones inter-laboratorios.

#### Agradecimientos

Agradecemos al Ministerio de Salud de la provincia de Buenos Aires y la Lic. Marina Pifano y a la Bact. Celeste Giner por la provisión de los *kits* y por permitir e incentivarlos a llevar adelante este estudio. El equipo MIC qCycler fue adquirido mediante un subsidio de equipamiento de la Fundación Alexander Von Humboldt, Alemania, otorgado al Dr. Gastón Moré. Agradecemos también a todo el personal que brinda asistencia para la recepción de muestras y compras del material de uso del laboratorio en la FCV-UNLP.

#### Bibliografía

Arevalo-Rodriguez I, Buitrago-Garcia D, Simancas-Racines D, Zambrano-Achig P, del Campo R, Ciapponi A, Sued O, Martinez-Garcia L, Rutjes A, Low N, Perez-Molina JA, Zamora J. 2020. False-negative results of initial RT-PCR assays for covid-19: a systematic review. *PLoS One* 15: e0242958.

Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Schmidt ML, Mulders DGJC, Haagmans BL, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, Goderski G, Romette JL, Ellis J, Zambon M, Peiris M, Goossens H, Reusken C, Koopmans MPG, Drosten C. 2020. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 25: 2000045.

Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Gao GF, Wu G, Chen W, Shi W, Tan W. 2020. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 395: 565-74.

Moore NM, Li H, Schejbal D, Lindsley J, Hayden MK. 2020. Comparison of Two Commercial Molecular Tests and a Laboratory-Developed Modification of the CDC 2019-nCoV Reverse Transcriptase PCR Assay for the Detection of SARS-CoV-2. *J. Clin. Microbiol.* 58: e00938-20.

Moré G, Panei CJ, Fuentealba N, Aspitia C, Bravi ME, Origlia J, Rambeaud M, Tizzano MA, Rudd Garcés G, Golijow C, Unzaga JM, Pecoraro M. 2020. Resultados del primer bimestre de trabajo de la unidad de diagnóstico COVID-19 de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP. *Analecta Veterinaria* 40: <https://doi.org/10.24215/15142590e050>

Ramirez JD, Muñoz M, Hernandez C, Flórez C, Gomez S, Rico A, Pardo L, Barros EC, Paniz-Mondolfi AE. 2020. Genetic Diversity Among SARS-CoV2 Strains in South America may Impact Performance of Molecular Detection. *Pathogens* 9: 580.

Shi J, Han D, Zhang R, Li J, Zhang R. 2020. Molecular and serological assays for SARS-CoV-2: insights from genome and clinical characteristics. *Clin. Chem.* 66: 1030-46.

Watson J, Whiting PF, Brush JE. 2020. Interpreting a covid-19 test result. *Brit. Med. J.* 369: m1808.

Woloshin S, Patel N, Kesselheim AS. 2020. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection — Challenges and Implications. *New Engl. J. Med.* 383: e38.

Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, Fung SY, Chan CP, Jin DY. 2020. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int. J. Biol. Sci.* 16: 1686-97.