

1	Cuál es la unidad que presenta Pedro, en las Tablas de resultados entre 30 y 40?
	La unidad es la de CT o ciclos umbrales en las curvas de PCR
2	Al centrifugar no queda material genético en el sobrenadante? esto es si la centrifugación es eficiente en la formación de pellets para coronavirus
	Si es eficiente, obteniéndose un pellet firme y de buena estructura
3	Me pueden indicar la concentración de PAC agregado a la fracción de 175 ml de muestra inicial y además el pH del PBS de resuspensión del último pellet.
	Concentración PAC 0,81% - pH PBS 7,4
4	Cuál es el kit comercial que utilizan para la purificación de ARN viral a través de columnas ?
	Viral Nucleic Acid Extraction Kit II- Marca Generaid
5	A -20°C cuanto tiempo se puede conservar el concentrado ? han probado conservar la muestra original ?
	A -20°C se puede conservar durante varios meses hasta un año esto último según bibliografía, el problema de la muestra original es la capacidad del freezer con que cuentas, a 4°C estamos observando que se pueden conservar hasta una semana.
6	Trabajaron con sondas ?
	Si con sondas de hidrólisis Taq-man
7	El volumen de muestras a recolectar puede ser mayor, se obtienen mejores resultados ? Para plantas depuradoras con lagunas en qué punto del tratamiento se recomienda la toma de muestra ?
	No es aconsejable superar el litro dado que también concentrarás inhibidores que afectarán el desempeño del método
8	Cuál es el volumen final luego de la elución en el proceso de extracción de ARN?
	100 microlitros
9	Han realizado comparación con otros métodos de purificación como el uso de beads cargados eléctricamente para unir ARN?
	Tenemos previsto incorporar el empleo de beads para extracción de ácidos nucleicos

10	El control positivo es obtenido comercialmente ? Si esto es así, cuál es la empresa que los provee ? y la marca del mismo ¿Cuál es la master mix que están utilizando?
	Estamos trabajando con un estándar que nos cedió el Inst. Malbrán y un kit control de proceso de Mengovirus (Biomerieux). La master mix es de Thermofisher.
11	Los genes elegidos son parte de un kit comercial o trabajan con primers que son parte de un kit? Me interesaría saber las secuencias de los primers elegidos y cuál de los genes les han dado mejores resultados?
	Dada la premura en la implementación de este desarrollo estamos utilizando un kit comercial de Thermofisher que detecta regiones del gen ORF 1 ab, gen N y gen S
12	Hay alguna posibilidad de publicar un protocolo completo desde la tubería a l resultado final, incluyendo todos los pasos y materiales ?
	Estamos en pleno proceso de redacción del protocolo de trabajo seguramente será publicado en la página web del Cofes en poco tiempo
13	Que crioprotectores recomienda para preservar muestras ?
	En caso de optar por conservaciones a -80°C a largo plazo te recomendaría el empleo de glicerol o dimetilsulfóxido, a - 20°C podes conservar los concentrados sin crioprotector hasta un año según bibliografía
14	En cuanto a los estandares CA/CC, como evaluaron efecto matriz, que valores de recuperación tienen ? y que estandares para cuantificar están utilizando?
	La recuperación inicial con muestra fortificada ha sido del 8% y estamos empleando un estándar que nos cedió el Inst. Malbrán y un kit control de proceso de Mengovirus (Biomerieux) para evaluación del método
15	Acabo de recibir un artículo del país que informa sobre el hallazgo de genoma de Sars-Cov-2 en lodos fecales de marzo de 2019 en Barcelona. ¿Qué veracidad le dan a esta información? Si es que tienen constancia de ello, claro
	La Universidad de Barcelona es una institución muy seria. De todos modos la única información al respecto que tenemos es lo que salió en la prensa.
16	Podría pensarse en aplicar esto en una planta cloacal industrial, para saber lo que pasa dentro de ese establecimiento

	Si te referís a una Planta de Tratamiento de una Industria, en primera instancia habrá que tener en cuenta el tipo de industria y los posibles inhibidores presentes que seguramente degradarán o afectarán al material genético además de modificar el proceso de concentración y extracción de ácidos nucleicos. Si tu pregunta se refiere a las Plantas Depuradoras de líquidos cloacales que operamos, la respuesta es sí, de hecho lo estamos haciendo.
17	Cuál es el estandar que están utilizando para cuantificar ?
	Estamos trabajando con un estándar que nos cedió el Inst. Malbrán y un kit control de proceso de Mengovirus (Biomerieux).
18	Se van a realizar análisis en el barro cloacal?
	Sí lo tenemos en consideración para una próxima etapa, pero hoy la prioridad está puesta en el monitoreo epidemiológico.
19	Las 2 muestras de 175 cm <sup>3</sup> centrifugada luego se unen en el último paso del buffer PBS?
	Si, se unifican.
20	Están en búsqueda de evaluar otros Kit de Extracción y Kit de qPCR de otros proveedores ?
	Si tenemos previsto en un mediano plazo optimizar el proceso de extracción de ácidos nucleicos con el empleo de beads.
21	Qué tan avanzados están al momento con este tema?
	Lo esperado para esta etapa de la pandemia contamos con un método para ser utilizado como herramienta de vigilancia epidemiológica.
22	La viabilidad de hacer intercambio de experiencias con otras EPS; será posible a través de sus metodologías analíticas y toma de muestras
	Totalmente este es un proceso abierto donde nos encontramos desarrollando metodologías y ávidos de compartirlas y de intercambiar experiencias
23	La información de detección es suministrada al ministerio de salud para que tengan información tan importante.
	Si. La información generada es para el Ministerio de Salud de la Nación como una herramienta más para la toma de decisiones.
24	Cuál es la metodología que efectúan para la concentración y extracción de Sars cov2?
	Estamos en pleno proceso de redacción del protocolo de trabajo seguramente será publicado en la página web del Cofes en poco tiempo.

25	Desde la toma de muestra hasta la finalización del ensayo pcr, cuanto se demora ?
	Puedes tener el resultado el mismo día de extracción de la muestra, pero para optimizar tiempos y recursos estamos tardando un promedio de 3 días.
26	Cuál es la relación de número de infectados con la concentración de ARN detectado ?
	No es una relación que estemos haciendo en AySA. Difícilmente se pueda establecer una relación matemática entre la concentración y la cantidad de infectados. Lo que sí está claramente demostrado es que a mayor concentración en el tiempo, mayor la cantidad de infectados en el área estudiada, y viceversa.
27	Si el líquido cloacal es portador del virus, el personal que trabaja en las redes en las tareas de desobstrucción o en el tratamiento de efluentes en los Establecimientos depuradores tiene riesgo de contagio del COVID?
	Está comprobado que le virus no se transmite a través del líquido cloacal
28	Se detectó material genético a la salida planta?
	No hemos detectado material genético a la salida de las plntas depuradoras
29	Nos interesa muestrear los efluentes en la ciudad, es posible remitirles muestras ?
	Por el momento no tenemos capacidad de realizar muestras para terceros.
30	Criterios y cuidados para la toma y conservación de muestras. Si las mismas deben ser puntuales, compuestas o compensadas por caudal.
	Debido a que tomamos las muestras en horarios de mayor descarga y a la cantidad que estamos haciendo por día para cubrir a una población de más de 8 millones y medio de habitantes, no estamos haciendo muestras compuestas. Dependiendo del tipo de estudio a realizar es una alternativa a tener en cuenta.
31	Existe forma de derivar algunas muestras de líquido cloacal para la detección de SARS-Cov-2,
	Por el momento no tenemos capacidad de realizar muestras para terceros.
32	Quisiera saber cómo es el sistema que usan para cuantificar las copias de ARN. Pueden comentar si usan plásmido y como conseguirlo.
	Estamos trabajando con un estándar que nos cedió el Inst. Malbrán y un kit control de proceso de Mengovirus (Biomerieux).