Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 23 - No. 2 *Año 2020*

Órgano Oficial de la SVBE

CONTENIDO

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 134

ARTÍCULOS DE REVISIÓN:

Pandemia y epidemia de COVID-19 en Venezuela y proyección en aplazamiento: subregistro, ruralización y exceso de mortalidad. Noviembre, 2020

Alejandro Rísquez Parra, Luis Echezuría Marval, José Félix Oletta López, Mariano Fernández-Silano..... 136

A más de 6 meses de la declaración de la pandemia: requisitos de las instalaciones, los equipos y el personal del laboratorio para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19.

Celsy Hernández, María Fátima Garcés, Elizabeth Hernández..... 144

Detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19: a más de 6 meses de la declaración de la pandemia

Celsy Hernández, María Fátima Garcés, Elizabeth Hernández..... 170

Pruebas antigénicas en la vigilancia epidemiológica de COVID-19

Carlos D'Suze García, Josefa Villasmil Arias, Luis Echezuria Marval..... 190

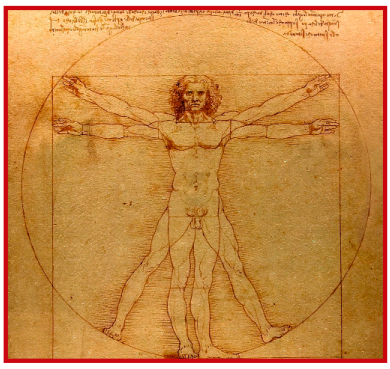
Potenciales opciones terapéuticas para infecciones por SARS-CoV 1 Y 2

Juan Bautista De Sanctis, Dolores Moreno, Alexis García, Gricelis Martínez, Michael Mijares..... 206

AGRADECIMIENTO PARA LOS ARBITROS DE 2020..... 215

ÍNDICE POR AUTORES, TÍTULOS Y PALABRAS CLAVE AÑO 2020..... 216

INFORMACIÓN PARA AUTORES..... 220



Revista arbitrada e indizada
LILACS (BIREME)
Depósito Legal 199202DF899
ISSN 1315-1746
Miembro ASEREME

Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 23. No 2.
Año 2020

2019-2020
Consejo Directivo

Editores
Dra. María Fátima Garcés
MSc. Maikell Segovia

Gerencia Editorial
Dra. María Fátima Garcés
Gerencia Administrativa
MSc. Sharim Marrero

Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas (S.V.B.E.)
Junta Directiva

Presidenta
MSc. Yaniska Fránquiz

Dirección General
Dra. María Fátima Garcés

Dirección Científica
MSc. Aura Palencia

Dirección Administrativa
MSc. Sharim Marrero

Dirección de Proyectos y Divulgación Científica
MSc. Valmore Rodríguez

Comisión evaluadora de credenciales:
Dra. María Fátima Garcés
MSc. Aura Palencia
MSc. Valmore Rodríguez

Comisión para otorgar unidades crédito
Lic. Josefina Guariguata
Esp. Shasbleidy Diaz
MSc. Martha Herrera

Comité de Redacción
Dra. Priva Zabner de Oziel, Esp. Noel Silva
Esp. Shasbleidy Díaz, MSc. Valmore Rodríguez
Dra. María Fátima Garcés, MSc. Giuseppe Ferrara,
Dra. Marlyn Vivenes, MSc. Celsy Hernández,
Dra. Hilda Stekman.

Revista arbitrada e indizada dedicada a publicar los trabajos de los profesionales del Bioanálisis en investigación básica y aplicada.

Dirección: Av. Ppal c/c Alfredo Jahn y Alvarez Michaud. Casa Colegio de Bioanalistas. Nro. 13-01. Urb. Los Chorros. Zona Postal 1070. Caracas - Venezuela.

ISNN: 1315-1746
Depósito Legal: pp 199202DF899
Indizada
LILACS (BIREME)
MIEMBRO ASEREME

Publicación Semestral de la SVBE

Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENIDO

Vol. 23 - No 2 2020

EDITORIAL
María Fátima Garcés..... 134

ARTÍCULOS DE REVISIÓN:
Pandemia y epidemia de COVID-19 en Venezuela y proyección en aplazamiento: subregistro, ruralización y exceso de mortalidad. Noviembre, 2020
Alejandro Rísquez Parra, Luis Echezuría Marval, José Félix Oletta López, Mariano Fernández-Silano..... 136

A más de 6 meses de la declaración de la pandemia: requisitos de las instalaciones, los equipos y el personal del laboratorio para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19.
Celsy Hernández, María Fátima Garcés, Elizabeth Hernández..... 144

Detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19: a más de 6 meses de la declaración de la pandemia
Celsy Hernández, María Fátima Garcés, Elizabeth Hernández..... 170

Pruebas antigénicas en la vigilancia epidemiológica de COVID-19
Carlos D'Suze García, Josefa Villasmil Arias, Luis Echezuria Marval..... 190

Potenciales opciones terapéuticas para infecciones por SARS-CoV 1 Y 2
Juan Bautista De Sanctis, Dolores Moreno, Alexis García, Gricelis Martínez, Michael Mijares..... 206

AGRADECIMIENTO PARA LOS ARBITROS DE 2020..... 215

ÍNDICE POR AUTORES, TÍTULOS Y PALABRAS CLAVE AÑO 2020..... 216

INFORMACIÓN PARA AUTORES..... 220

Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 23 - No 2 2020

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 134

REVIEW ARTICLE:

Pandemic and COVID-19 epidemic in venezuela and projection in deferral: Under-registration, ruralization and excess mortality. November, 2020.

Alejandro Rísquez Parra, Luis Echezuría Marval, José Félix Oletta López, Mariano Fernández-Silano..... 136

More than 6 months after the pandemic declaration: laboratory facilities, equipment and personnel requirements for the detection of SARS-CoV-2 and diagnosis of COVID-19.

Celsy Hernández, María Fátima Garcés, Elizabeth Hernández..... 144

SARS-CoV-2 detection and COVID-19 diagnosis: more than 6 months after the declaration of the pandemic

Celsy Hernández, María Fátima Garcés, Elizabeth Hernández..... 170

Antigenic tests in COVID-19 epidemiological surveillance

Carlos D'Suze García, Josefa Villasmil Arias, Luis Echezuria Marval..... 190

Potential therapeutic options for SARS-CoV 1 and 2 infections

Juan Bautista De Sanctis, Dolores Moreno, Alexis García, Gricelis Martínez, Michael Mijares..... 206

THANK YOU TO THE 2020 ARBITERS..... 215

INDEX BY AUTHORS, TITLES AND KEYWORDS YEAR 2020..... 216

INFORMATION FOR AUTHORS..... 220

EDITORIAL

Este año 2020 dedicamos ambos números de la Revista de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas al personal de salud en Venezuela y el mundo, por ser parte importante de la lucha en contra del COVID-19, el cual dio origen a la declaración de alerta mundial por la Organización Mundial de la Salud el día 30 de enero y como pandemia el 11 de marzo de 2020.

El SARS-CoV-2 es un virus que ha cambiado la forma de vivir en nuestro planeta. La situación que estamos viviendo como consecuencia de la pandemia del COVID-19 es solo comparable, a la que hace poco más de un siglo padeció el mundo con la gripe de 1918. Los efectos que ha producido el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 en todos los países son de enorme gravedad desde el punto de vista clínico, económico y social. Es por esto que los científicos en todo el mundo se han abocado la tarea de esclarecer las interrogantes sobre este virus y luchar contra él.

Como está reseñado por la autoridad mundial, todo inicia el 31 de diciembre de 2019 cuando fue notificado a la Oficina de la OMS en China un grupo de 27 casos de neumonía de etiología desconocida, detectados en el municipio de Wuhan en la provincia de Hubei, China. Al día siguiente, el 1 de enero de 2020, las autoridades sanitarias de China cierran el mercado mayorista de mariscos de Wuhan, después que se presume que los animales exóticos y salvajes vendidos allí, pudieran ser la fuente de un virus desconocido causante de la neumonía. El 7 de enero de 2020, el Centro Chino para el Control y la Prevención de Enfermedades identifica el virus de la neumonía de Wuhan, como el "nuevo coronavirus del 2019", llamado 2019-nCoV (del inglés, 2019 *new Coronavirus*), por la OMS.

En los momentos actuales de la presente publicación 25 de enero de 2021, se reportan a nivel mundial 100.792.989 casos confirmados y 2.164.395 defunciones en 230 países. Por otra parte en las Américas se tienen 43 millones de infectados y se superó el millón de muertes, mientras que en Venezuela se han reportado 124.112 casos con 1.154 defunciones, para una letalidad del 0,9%, ocupando nuestro país el puesto 76 en el mundo.

Culminamos el año 2020 con la publicación de la revista número 2 (julio-diciembre) del Volumen 23, en formato digital a través de la página web de la SVBE y del Repositorio Saber-UCV. Este número incluye cinco trabajos científicos versados sobre COVID-19, en los cuales se tratan aspectos epidemiológicos, diagnóstico, evaluación, posible terapéutica, así como las orientaciones publicadas por la OMS desde el surgimiento del brote infeccioso en relación a los requisitos y procesos propios del laboratorio, esenciales para la detección y diagnóstico del COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2.

Iniciamos este número con el trabajo titulado: "**Pandemia y epidemia de COVID-19 en Venezuela y proyección en aplazamiento: subregistro, ruralización y exceso de mortalidad. Noviembre, 2020**" elaborado por el Dr. Alejandro Rísquez profesor de la cátedra de Salud Pública de la Escuela Luís Razetti-UCV; el segundo y tercer trabajo titulado: "**A más de 6 meses de la declaración de la pandemia: requisitos de las instalaciones, equipos y personal del laboratorio**

para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19" y "**Detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19: A más de 6 meses de la declaración de la pandemia**" elaborado por las profesoras de la Escuela de Bioanálisis-UCV Celsy Hernández, María Fátima Garcés y la Dra Elizabeth Hernández Médico Cirujano, Especialista en Medicina Crítica, Anestesiología y Salud Pública; el cuarto trabajo titulado: "**Pruebas antigénicas en la vigilancia epidemiológica de COVID-19**" cuyos autores son los profesores Carlos D´Suze (Centro de Investigación en Salud Dr. Jacinto Convit), Josefa Villasmil (Escuela de Bioanálisis) y Luís Echezuría (Escuela Luis Razetti). Cerramos este número con un trabajo titulado: "**Potenciales opciones terapéuticas para infecciones por SARS-CoV 1 y 2**" realizada por los profesores Juan De Sanctis del Instituto de Inmunología, Dolores Moreno de la Escuela Luís Razetti, Alexis García del Instituto de Inmunología, Gricelis Martínez y Michael Mijares de la Unidad de Biotecnología de la Facultad de Farmacia.

La revista agradece a todos los investigadores que han contribuido con la edición de esta revista y rinde homenaje a todo el personal de salud de Venezuela y el mundo que son la primera línea de batalla contra la pandemia del COVID-19. Este número se escribe en memoria a las víctimas del SARS-CoV-2, y se dedica a todos los profesionales del laboratorio, responsables de la ejecución de pruebas para la detección y diagnóstico del COVID-19 imprescindibles en la lucha contra esta pandemia.

Dra. María Fátima Garcés

Editora.

PANDEMIA Y EPIDEMIA DE COVID-19 EN VENEZUELA Y PROYECCIÓN EN APLAZAMIENTO: SUBREGISTRO, RURALIZACIÓN Y EXCESO DE MORTALIDAD. NOVIEMBRE, 2020.

Alejandro Rísquez Parra[1], Luis Echezuría Marval[2], José Félix Oletta López[3], Mariano Fernández-Silano.[4]

[1]Médico Pediatra y Epidemiólogo, Profesor Titular Facultad de Medicina, UCV. [2]Médico Pediatra y Epidemiólogo, Profesor Titular Facultad de Medicina, UCV, [3]Médico Internista, Profesor Agregado Facultad de Medicina, UCV. [4]Médico Epidemiólogo, PhD, Profesor Titular Facultad de Medicina, UCV.

Recibido para publicación 8 Diciembre 2020. Aceptado 22 Diciembre 2020.

RESUMEN:
La falta de información epidemiológica nacional pormenorizada, confiable y oportuna motivó a realizar abordajes técnico-científicos para estimar la magnitud, extensión y la proyección de la epidemia de COVID-19 en Venezuela. La epidemia está activa y de baja intensidad, pasó una primera ola epidémica que saturó el sistema de atención médica, en relación a los países vecinos las tasas de morbi-mortalidad, entre 10 a 20 veces menos, y con tasa de letalidad muy bajas 0,9%, la más baja de Latinoamérica. Los registros evidencian distribución geográfica en zonas urbanas y "ruralización" de la transmisión. A pesar de la baja mortalidad registrada oficialmente, se estima que hay un exceso de muertes no cuantificado a investigar y COVID-19 está ubicada entre las principales 25 causas de muertes. La proyección de la epidemia está aplazada para Venezuela, y se proyecta una segunda ola de mayor magnitud a corto plazo debida a la flexibilización ampliada en la movilización nacional e internacional y un menor acatamiento de las medidas sociales y de salud pública para prevenir la infección SARS-CoV-2.

Palabras clave: Epidemia, Venezuela, COVID-19, proyección, vigilancia epidemiológica.

PANDEMIC AND COVID-19 EPIDEMIC IN VENEZUELA AND PROJECTION IN DEFERRAL: UNDER-REGISTRATION, RURALIZATION AND EXCESS MORTALITY. NOVEMBER, 2020.

SUMMARY
The lack of detailed, reliable and timely national epidemiological information prompted technical-scientific approaches with approaches to estimate the magnitude, extent and projection of the COVID-19 epidemic in Venezuela. The epidemic is active and low intensity, passed a first epidemic wave that saturated the health care system, relative to neighboring countries morbidity-mortality rates, 10 to 20 times less, and with very low fatality rate 0.9%, the lowest in Latin America. Records show geographical distribution in urban areas and "ruralization" of transmission. Despite the officially recorded low mortality, it is estimated that there are an un quantified excess of deaths to investigate and COVID-19 is among the top 25 causes of death. The projection of the epidemic is postponed for Venezuela, and a larger second wave is projected in the short term due to expanded flexibility in national and international mobilization and less compliance with social and public health measures to prevent SARS-CoV-2 infection.

Keywords: Epidemic, Venezuela, COVID-19, projection, epidemiological surveillance.

Introducción

La limitada disponibilidad de datos oficiales de morbi-mortalidad por COVID-19, aunado al posible grado de error de estos registros, debido a fallas, imprecisiones, problemas de validez y confiabilidad de los procesos de captura de la misma. Motivó a los autores a plantearse la necesidad de investigar y aplicar diversos abordajes técnicos-científicos a esta información, con la finalidad de intentar dar respuesta a los grandes interrogantes de la comunidad médica y general en cuanto a la verdadera magnitud de la epidemia en el país, con base a datos secundarios de la demografía, la estadística, y la aplicación de modelos matemáticos, presentando en este documento algunas aproximaciones preliminares, que permiten caracterizar la epidemia de COVID-19 en el país.

Desarrollo

Pandemia y epidemia nacional de COVID-19

La pandemia registra un crecimiento por regiones y recurrencia para finales de noviembre de 2020. En el

Solicitar copia a: Mariano Fernández (mferna@gmail.com)

Gráfico 1. Casos y muertes semanales de COVID-19 reportadas por región de la OMS, hasta el 22 de noviembre de 2020.

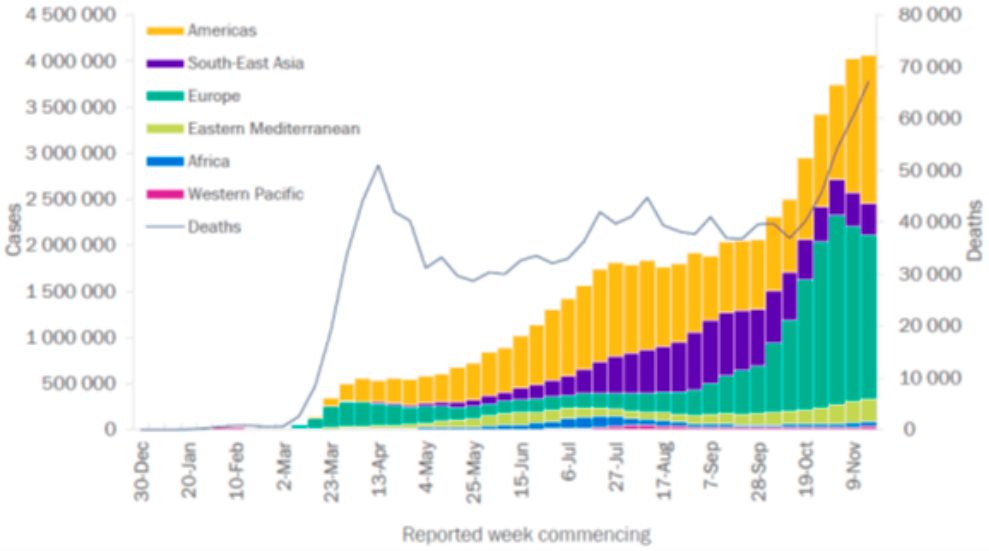


Gráfico 1, puede observarse los casos y muertes debidas a la segunda ola, que son muy superiores a la que hubo en la primera. Cerca de 58 millones de casos y 1,4 millones de muertes acumuladas. En la última semana; 4 millones de nuevos casos y 67.221 muertes (1).

La Figura 2, muestra como la pandemia está activa en todas las regiones, observándose tasas de ataque más elevadas en Occidente y Oriente medio (2).

La Tabla 1, permite observar como Venezuela presenta una epidemia de baja intensidad relativa al compararse con el resto de sus vecinos: Colombia, Brasil, Ecuador, Perú, Chile, Argentina; con tasas de morbilidad 10 veces por debajo del grupo y hasta 30 veces, en el caso de las cifras de mortalidad (2).

Al analizar las curvas epidémicas de los países nombrados (Figura 3), se encuentra que la mayoría de

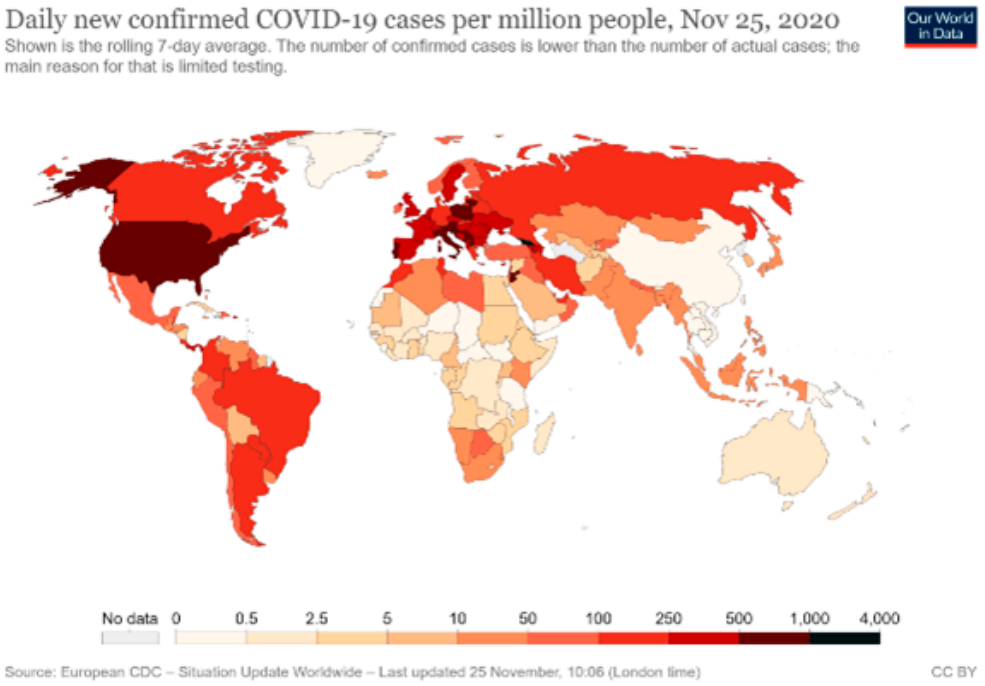


Figura 2. Tasas por millón de habitantes de COVID-19 hasta el 25 de noviembre de 2020.

Tabla 1. COVID-19. Tasas de morbilidad y mortalidad por millón de habitantes, países seleccionados de Latinoamérica hasta el 24 de noviembre de 2020.

Países	Tasa morbilidad x millón	Tasa mortalidad x millón
Perú	28.886	1.082
Argentina	30.573	828
Brasil	28.785	800
Chile	28.409	792
Ecuador	10.567	752
Colombia	24.811	701
Venezuela	3.534	31
Uruguay	1.402	21

Fuente: *Our World in Data*. https://ourworldindata.org/coronavirus

ellos tienen curvas ascendentes y en meseta, en algunos casos recurrente o sostenidas en el lapso desde marzo a noviembre, muy diferentes; mientras los datos de Venezuela muestran una ola muy baja en comparación al resto de los países Latinoamericanos y vecinos cercanos, llama la atención Uruguay, cuya grafica revela, igualmente, cifras muy bajas, con una tendencia al ascenso en la última semana.

El portal *Web World Life Expectancy* (3) presenta las principales causas de defunciones en diferentes naciones y su relación con las muertes debida a COVID-19; utilizando para ello la información de cada nación y las principales bases de datos mundiales. Este portal muestra que el COVID-19, es la primera causa de muerte en Brasil, Ecuador y Perú; segunda en Argentina, EE.UU. y Colombia; y no aparece entre las primeras 25 causas en Venezuela y Uruguay. Esto puede dar una idea de la magnitud del daño que causa la enfermedad en los países de la región.

Al considerar la letalidad, según los datos de casos y muertes (2) reflejan que para el 23 de noviembre, porcentajes que van desde 0,9% en Venezuela hasta 7,1% Ecuador, la mayoría de los países de la región seleccionados (Tabla 1 y Figura 3) entre 2,7 y 3,7%, mientras que Uruguay el segundo más bajo con 1,5%. Mostrando diferencias de hasta 7 veces mayor en las razones de letalidad.

Las tasas oficiales de Venezuela muestran una epidemia activa de baja intensidad con una primera ola epidémica que comienza a descender a mediados del mes de octubre. Los datos oficiales (4) reportan que se alcanzan los 100.807 casos confirmados y 880 muertes para el 25 de noviembre de 2020. Dentro de los últimos casos de COVID-19 notificados, más del 90 % son en personas menores de 60 años, con 56.561 del sexo masculino y 44.256 del sexo femenino. La Figura 4, muestra el mapeo epidemiológico de la epidemia, registrando actividad en todo el territorio nacional, las áreas más oscuras representan la concentración de mayor número de casos, observando mayor acumulación de los casos en los estados fronterizos, en lo que poseen mayor cantidad de zonas urbanas, y en las entidades federales más densamente pobladas.

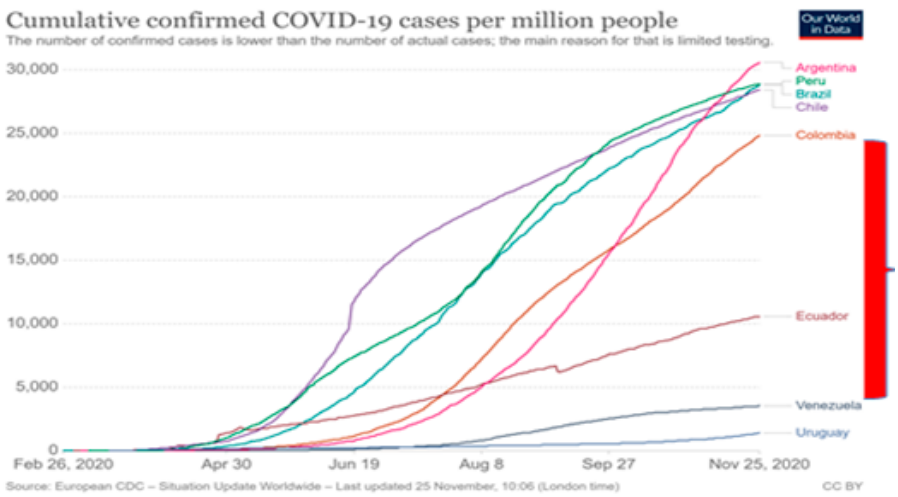
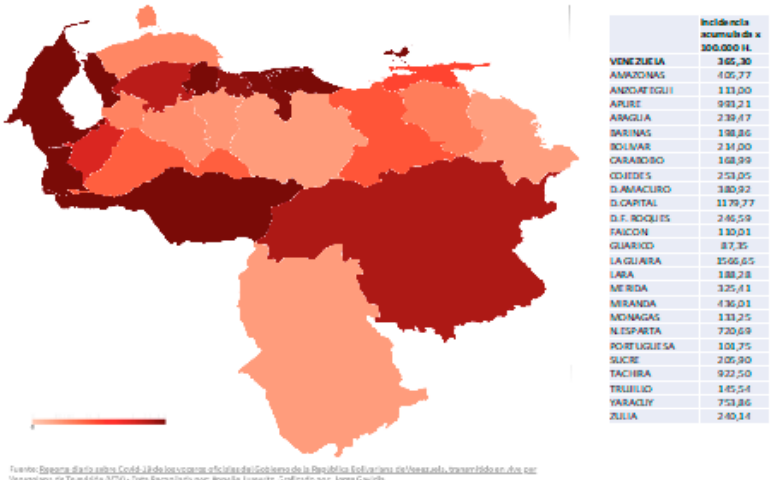


Figura 3. Tasas de casos confirmados acumulados por millón de habitantes en países seleccionados de Latinoamérica hasta el 25 de noviembre de 2020. (2)



	Incidencia acumulada x 100.000 H.
VENEZUELA	365,30
AMAZONAS	406,77
ANZOATEGUI	133,00
APURE	931,21
ARAGUA	239,47
BARINAS	198,86
BOLIVAR	234,00
CARABOBO	168,99
COJEDES	253,05
D.AMACURO	380,92
D.CAPITAL	1179,77
D.F. ROQUES	246,59
FALCON	130,01
GUARICO	87,35
LA GUAIRA	1566,65
LARA	188,28
MERIDA	325,41
MIRANDA	436,01
MONAGAS	133,25
N.ESPARTA	720,69
PORTUGUESA	108,75
SUCRE	205,90
TACHIRA	922,50
TRUJILLO	145,54
YARACUY	753,86
ZULIA	240,14

Figura 4. COVID-19. Mapa epidemiológico de los casos acumulados por entidades federales de Venezuela, hasta el 25 de noviembre de 2020.

En los últimos 35 días, la epidemia está activa en todo el territorio nacional, De 12.623 casos confirmados en este lapso, 6.282 (49,76%) ocurrieron en 4 Entidades Federales con alta transmisión (mayor de 1.000 casos). Otras 4 Entidades Federales, con moderada transmisión (entre 500 y 999 casos), sumaron 3.750 casos (29,54%). Mientras que 12 estados con transmisión baja, notificaron 2.402 casos (19,02%) y 5 entidades con escasa transmisión acumularon 209 casos (1,65%) (Figura 5).

La dinámica espacio-temporal de la epidemia por entidad federal, es representada en el siguiente "mapa de calor", que nos muestra la evolución semanal en los últimos 8 meses y la persistencia de la transmisión comunitaria en todo el país, en las últimas 5 semanas, si bien es de notar que no hay reporte de nuevos casos en las últimas 3 semanas en Delta Amacuro y Sucre, y escasos casos en Amazonas (Figura 6).

Esto es una muestra de la extensa propagación territorial de la epidemia en Venezuela, más allá de las grandes ciudades y de la frontera con países de grandes epidemias, con alta ruralización de su ubicación geográfica.

La Figura 7, muestra la distribución geográfica de loa casos confirmados de COVID-19, desde el 13 de marzo hasta el 1 de diciembre de 2020, de acuerdo a la información oficial recopilada de diversas fuentes nacionales y regionales (4,5) de los 334 municipios del país, 250 (74,85%) notificaron casos autóctonos,

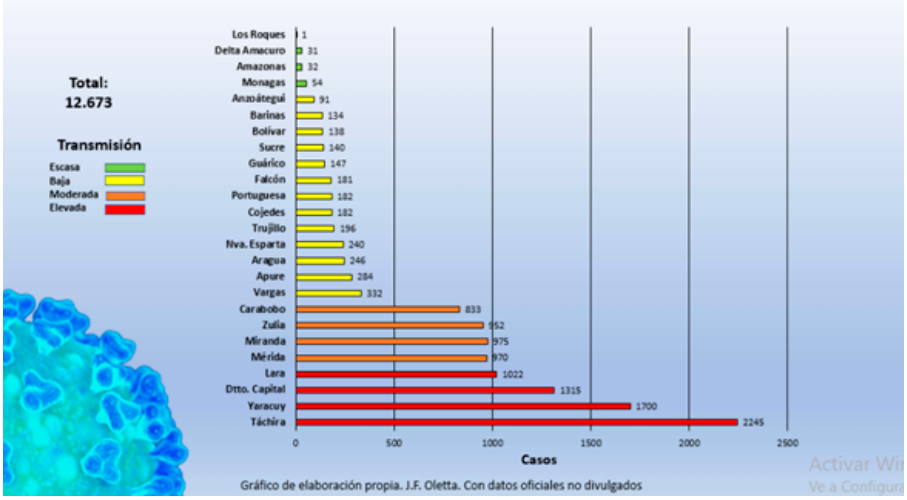


Figura 5. Casos nuevos confirmados de COVID-19, por entidades federales desde el 24 de octubre hasta el 29 de noviembre de 2020.

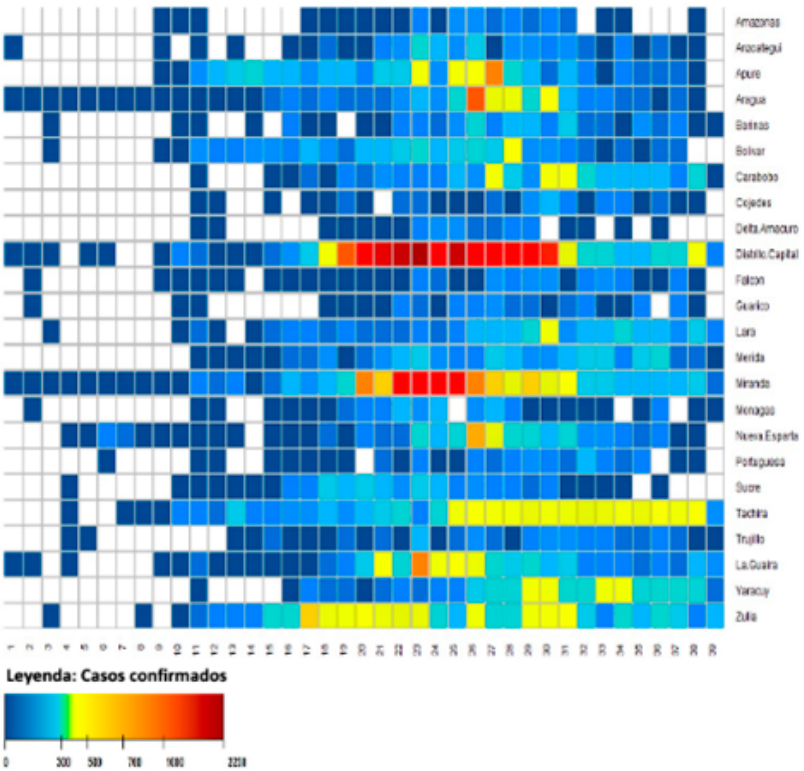


Figura elaborada por el Biólogo. Juan Vicente Hernández Villena.

Figura 6. Dinámica espacio-temporal de los reportes semanales de COVID-19 en Venezuela. Marzo-Noviembre, 2020.

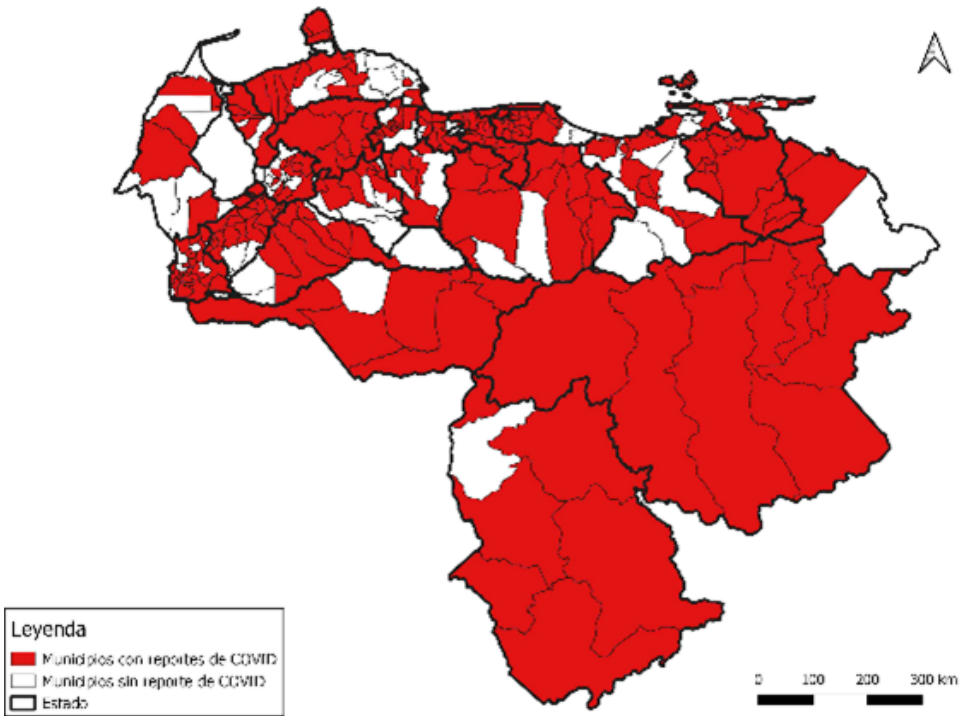


Figura elaborada por el Biólogo. Juan Vicente Hernández Villena.

Figura 7. Municipios con notificación de casos confirmados de COVID-19. Venezuela. 13 de marzo al 1 de diciembre de 2020.

confirmados de COVID-19. Esta distribución de los casos da una idea de la extensa diseminación territorial de la epidemia, más allá de las grandes ciudades, lo que denominaremos alta "ruralización" por su ubicación geográfica; a pesar de la aplicación prolongada de medidas de cuarentena global y la acentuada reducción de la movilidad comunitaria entre diversas entidades federales, como consecuencia de la carencia de combustible, transporte y restricciones de movilización entre entidades federales establecidas por las autoridades. Preocupa la diseminación de la pandemia a territorios con limitadas disponibilidades y capacidades de atención hospitalaria de los casos graves y las grandes distancias que deben recorrer los habitantes de estos municipios hasta los centros de atención para recibir cuidados especializados (6).

Como ejemplo, resaltamos, el caso del estado Yaracuy (Figura 8), donde en amplias regiones rurales con baja densidad poblacional, en 12 de los 14 Municipios del estado se registran casos (5).

En cuanto a la proyección de la epidemia en Venezuela, se considera aplazada o sin fecha fija o determinada, ("*Sine die*"), la población mayoritariamente susceptible, ha pasado por una primera ola epidémica que llegó a sobresaturar el sistema de salud en algunos estados del país como Zulia, Sucre y Anzoátegui, y colmó los establecimientos de salud y centros de aislamiento de COVID-19 en Caracas y otras ciudades del país desde mediados de agosto, septiembre y octubre del año en curso. Estas situaciones ocurren con estadísticas nacionales oficiales que no reflejan el fenómeno y con un sub-registro difícil de estimar. Es previsible considerar que existen altas probabilidades de una segunda ola epidémica en diciembre de 2020 y enero de 2021, que rebase el sistema de salud, como consecuencia de medidas de flexibilización amplia y sostenida durante el último mes, sin tomar en cuenta el comportamiento local o regional de la epidemia y conocer la capacidad real de respuesta del sistema de salud con inmensas debilidades (7, 8, 9).

Mortalidad y causas de muerte, extrapolación COVID-19.

La población actual del país (2020) según publicaciones como ENCOVI (UCAB, USB, UCV) (6), las Naciones Unidas en su oficina de Coordinación de Asuntos Humanitarios (OCHA) (10) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (11), luego de considerar que la gran diáspora o emigración de los

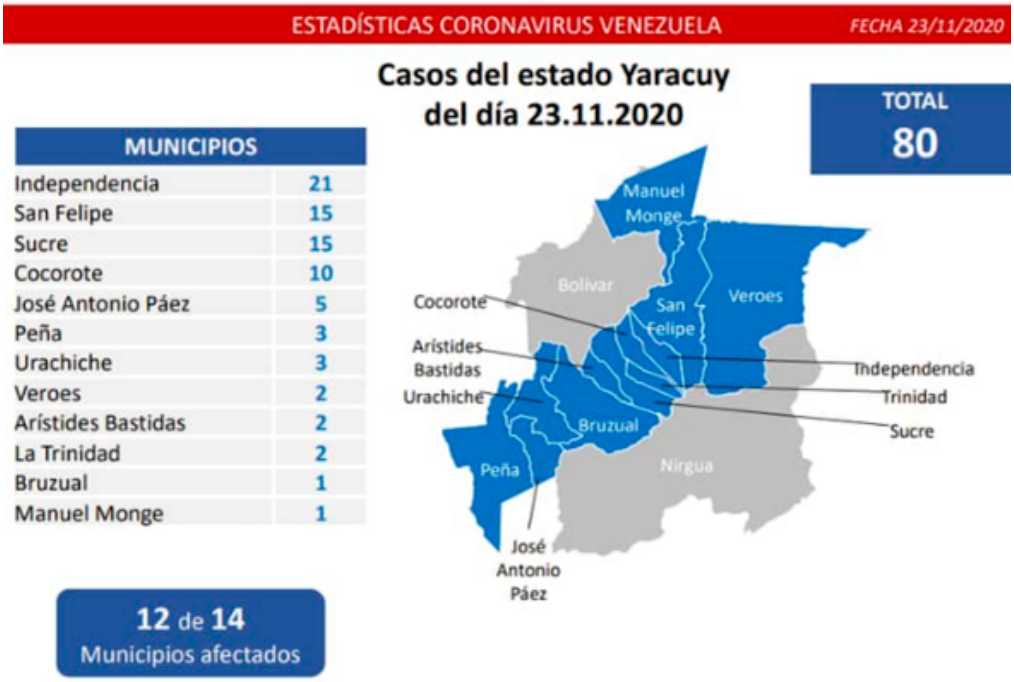


Figura 8. Mapeo epidemiológico de los casos de COVID-19 del estado Yaracuy según sus municipios, 23 de noviembre de 2020.

connacionales oscila entre 4,6 a 5,2 millones, dan como cifra real un total de 28, 6 millones de habitantes, lo que trae como consecuencias, la pérdida del bono demográfico, de los jóvenes, la población económicamente activa. Esta número poblacional es comparable con la que teníamos en el año 2014.

Con base a ello "asumimos" que ahora (2020) tenemos igual riesgo o probabilidad de morir que en el año 2014 y utilizando el anuario 2014 (12), último publicado por el Ministerio Poder Popular Para la Salud (MPPS), comparamos las defunciones registradas, publicadas y denunciadas por la "Comisión Presidencial de Lucha y Control del COVID-19" (4), que para el 27 Noviembre ascienden a ochocientos ochenta (880) casos en todo el territorio nacional. Ese número de muertes, posicionaría a esta afección COVID-19, (CIE 10: U07.1 para los casos confirmados y U07.2 para los casos sospechosos) en la posición número 18a de las causas de muerte, superando las defunciones por Enfermedades debidas a protozoarios (CIE 10: B50-B64) que incluyen Tripanosomiasis. (B56-B57) n= 767, Paludismo [Malaria] (B50-B54) n= 44, Toxoplasmosis (B58) n=10, para un total de con 826 defunciones, Íleo paralitico y obstrucción intestinal, sin hernia (K56) n=750, Enfermedades de las arterias, de las arteriolas y de los vasos capilares. (I70-I79) n= 723 la Tuberculosis. (A15-A19, B90) que incluye Tuberculosis respiratoria (A15-A16) n= 641, Tuberculosis del sistema nervioso (A17) n= 29 y la Tuberculosis miliar (A19) n= 19, un total de n= 712 para esta milenaria causa.

La epidemiología dispone de otras técnicas para lograr otras aproximaciones tales como la "mortalidad en exceso" (13) que ha resultado imposible de realizar por las trabas burocráticas, judiciales y otras limitaciones vigentes aplicadas por las autoridades. Otros abordajes que pudieran realizarse como "mortalidad asociada o relacionada" (12), tampoco han podido ser utilizadas, ya que siempre se choca con el hermetismo de las unidades responsables de resguardar estos datos, que deben ser públicos. Utilizando cualquiera de estas técnicas pudiéramos ser capaces de hacer otras contribuciones para la comprensión de la pandemia en nuestro país, pero resultan, como se ha dicho impracticables. Estas técnicas, que en otros países constituyen hasta ejercicios periodísticos de fácil realización, aquí se tornan muy difíciles de realizar.

Consideraciones finales

Ante esta realidad y entendiendo que es preferible tener una información aproximada, aunque con limitaciones y errores, antes que no tener ninguna información, se plantean estos ejercicios de estimación de morbilidad y mortalidad, como una contribución teórica y académica, que permita entender el comportamiento de la pandemia en el país y poder contribuir a la contención y mitigación de los daños que esta ocasione.

Resulta evidente, luego de analizar los datos anteriores, que las medidas de flexibilización ampliadas y que serán sostenidas por un mes, ordenadas a partir del 1 de diciembre, fueron decididas e iniciadas sin aportar las bases técnicas de salud pública con que fueron diseñadas, ni haber consultado previamente a la población, o las instituciones de atención, que por su naturaleza y misión son asesoras en asuntos inherentes a la salud de la población. Estas no deberían aplicarse por igual en todas las entidades federales de acuerdo a los hallazgos encontrados, por el contrario estas deberán ser proporcionales y ajustadas al riesgo e intensidad de la transmisión de la epidemia, considerando la menor disrupción de la vida social y económica de la población (15); y a la vez, deberían haber tomado en cuenta la capacidad instalada del sistema de salud para responder efectivamente en la atención de los casos que ameriten hospitalización, aislamiento y cuidados intensivos. Esta última información no ha sido divulgada por las autoridades del Ministerio de Salud.

Referencias

1. World Health Organization (WHO). [página web en Internet]. COVID-19 Weekly operational update on COVID-19. [citado 30 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/publications/m/item/weekly-operational-update---30-november-2020
2. Our World In Data. Estadísticas de COVID-19. [página web en Internet]. [citado 30 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://ourworldindata.org/coronavirus
3. World Life Expectancy. SELECTED DEATHS VS COVID-19. [página web en Internet]. [citado 30 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.worldlifeexpectancy.com/selected-deaths-vs-covid-19-brazil
4. Patria Blog. COVID-19, Venezuela. [página web en Internet]. [citado 30 de noviembre de 2020]. . Disponible en: https://covid19.patria.org.ve/estadisticas-venezuela/
5. CENDES-UCV. [página web en Internet]. CENDES-COVID-19: UNA VENTANA A LA PANDEMIA. Índice de gráficos COVID-19 Mundial. [citado 30 de

noviembre de 2020]. Disponible en: http://www.ucv.ve/?id=20514

6. Encuesta Nacional de Condiciones de Vida (ENCOVI). [página web en Internet]. Encuesta Nacional de Condiciones de Vida. 2019 – 2020. [citado 30 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.proyectoencovi.com/informe-interactivo-2019
7. Ministerio del Poder Popular para el Ecosocialismo. [página web en Internet]. Esta semana habrá flexibilización amplia. [Actualizado 06 de septiembre de 2020; citado 30 de noviembre de 2020]. Disponible en: http://www.minec.gob.ve/esta-semana-habra-flexibilizacion-amplia/
8. Ministerio del Poder Popular para las comunas y los Movimientos Sociales. [página web en Internet]. Este 26 oct arranca cuarentena radical del esquema 7+7 plus contra la covid-19 tras exitosa semana de flexibilización. [Actualizado 26 de octubre de 2020; citado 30 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.mpcomunas.gob.ve/2020/10/26/este-26oct-arranca-cuarentena-radical-del-esquema-77-plus-contra-la-covid-19-tras-exitosa-semana-de-flexibilizacion/
9. Rísquez A. y Fernández M. Análisis de la situación general de salud y la epidemia de COVID-19 en Venezuela durante el año 2020. Gac Méd Caracas. 2020;128(Suppl 1):S23-S41. doi: 10.47307/GMC.2020.128.s1.4
10. United Nations Office for the Coordination of Humanitarian Affairs (OCHA). Venezuela. [citado 30 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.unocha.org/venezuela
11. Organización Panamericana de la Salud. [página web en Internet]. Indicadores básicos 2019: Tendencias de la salud en las Américas. Washington, D.C.: OPS; 2019. [citado 5 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://iris.paho.org/handle/10665.2/51543.
12. Ministerio Poder Popular Para la Salud. [página web en Internet]. Anuario Mortalidad 2014.Venezuela. [citado 5 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.ovsalud.org/publicaciones/documentos-oficiales/anuario-mortalidad-2014/
13. Echezuría L, Fernández-Silano M, Rísquez A. Fundamentos de investigación epidemiológica y la metodología epidemiológica. En: Echezuría-Marval L, Fernández-Silano M, Rísquez-Parra A, Rodríguez-Morales A. Editores. Temas de Epidemiología y Salud Pública. Capítulo 14. Primera Edición. Caracas: Ediciones de la Biblioteca, EBUC, Universidad Central de Venezuela; 2013. P. 513-26.
14. Chique JJ. Y Echezuría L. Mortalidad. En: Echezuría-Marval L, Fernández-Silano M, Rísquez-Parra A, Rodríguez-Morales A. Editores. Temas de Epidemiología y Salud Pública. Capítulo 10. Primera Edición. Caracas: Ediciones de la Biblioteca, EBUC, Universidad Central de Venezuela; 2013. P. 513-26.
15. Organización Mundial para la Salud (OMS). [página web en Internet]. Consideraciones para la implementación y adecuación de las medidas sociales y de salud pública en el contexto del COVID-19. [Actualizado 4 de noviembre 2020; citado 5 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/publications-detail-redirect/considerations-in-adjusting-public-health-and-social-measures-in-the-context-of-covid-19-interim-guidance

A MÁS DE 6 MESES DE LA DECLARACIÓN DE LA PANDEMIA: REQUISITOS DE LAS INSTALACIONES, LOS EQUIPOS Y EL PERSONAL DEL LABORATORIO PARA LA DETECCIÓN DEL SARS-CoV-2 Y DIAGNÓSTICO DE COVID-19.

Celsy Hernández,[1] María Fátima Garcés,[2] Elizabeth Hernández.[3]

[1]Licenciado en Bioanálisis, Magíster en Sistemas de la Calidad. Profesor Agregado a Dedicación Exclusiva, Jefe de Cátedra de Bioquímica "B" y del Departamento de Bioquímica de la Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela. [2] Licenciado en Bioanálisis, Doctor en Bioquímica. Profesor Titular a Dedicación Exclusiva de la Cátedra de Bioquímica "A", Coordinadora del Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis. Director de la Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela. [3] Médico Cirujano. Especialista en Anestesiología y Medicina Crítica. Adjunto del Servicio de Anestesiología del Hospital "Dr. Domingo Guzmán Lander".

Recibido para publicación 24 Noviembre 2020. Aceptado 12 Diciembre 2020.

RESUMEN:
La evidencia actual disponible indica que el virus SARS-CoV-2 puede transmitirse desde las personas infectadas a través de secreciones (como las respiratorias y saliva), o gotitas respiratorias, las cuales son gotas con diámetros mayores a 5-10 µm, que se expulsan cuando una persona infectada tose, estornuda, habla o canta. Esta transmisión ocurre cuando una persona susceptible a la infección entra en contacto directo o cercano (menos de 1 metro) con otra persona infectada; la cuál al hablar, toser, estornudar o cantar, genera gotas respiratorias que alcanzan las mucosas (boca o nariz) o conjuntiva (ojos) de la persona susceptible. Adicionalmente, como estas gotas respiratorias son muy pesadas para ser transportadas por el aire, aterrizan en los objetos y superficies que rodean a la persona infectada sobre los cuales el virus puede permanecer viable. Otras personas sanas pueden infectarse al tocar objetos o superficies contaminados (fómites), y luego, al tocarse la nariz, boca u ojos. Por lo tanto, la transmisión puede ocurrir por contacto directo o cercano (distancias menores a 1 metro) y por contacto indirecto (fómites). Además, el virus puede transmitirse por vía aérea a través de núcleo gotas, las cuales son gotas con diámetros menores a 5 µm; que se generan durante la ejecución de procedimientos generadores de aerosoles, las cuales pueden permanecer en el aire durante largos periodos de tiempo y transmitirse a otros, a distancias superiores a 1 metro. De acuerdo con la OMS, el personal de salud, incluyendo al del laboratorio, está en la primera línea de la respuesta frente al brote de COVID-19, y como tales, están expuestos a múltiples riesgos que los predisponen a la infección por el SARS-CoV-2, a través de las distintas posibles vías de transmisión. A más de 6 meses de la declaración de la pandemia por COVID-19, esta revisión precisa los requisitos que deben cumplir actualmente las instalaciones, los equipos y el personal del laboratorio, para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19, mediante procedimientos técnicos y de bioseguridad que permitan prevenir y controlar la infección por SARS-CoV2 durante la atención en salud, de acuerdo a las orientaciones emanadas por la OMS. Según la OMS a fin de prevenir y controlar la infección por SARS-CoV2 durante la atención en salud, es necesario que el personal sanitario: 1) Lleve a cabo una adecuada higiene de las vías respiratorias y de manos, y utilice el equipo de protección personal (EPP) adecuado en función de la evaluación del riesgo; 2) Lleve a cabo prácticas y procedimientos técnicos y de bioseguridad apropiados a la ejecución del trabajo realizado en la atención al paciente; y 3) Realice un manejo seguro de desechos y vele por una adecuada desinfección y esterilización del entorno y del equipo utilizado. De acuerdo con la OMS, todas las prácticas y procedimientos que se realicen durante el manejo y procesamiento de muestras de pacientes sospechosos o confirmados COVID-19, deben llevase a cabo en instalaciones y por personal debidamente equipado, y con competencia técnica y de bioseguridad pertinente. El personal sanitario involucrado en los procesos propios del laboratorio, debe estar capacitado y ser completamente ético y competente para la ejecución de todos los procedimientos técnicos y de bioseguridad, los cuales deben permanecer absolutamente documentados y disponibles en el lugar de trabajo. Adicionalmente, todos los procedimientos operativos llevados a cabo por el personal del laboratorio, deben ejecutarse bajo una previa evaluación de riesgos que garantice los derechos y deberes de los trabajadores del laboratorio en relación a la protección de la salud y seguridad laboral.

Palabras clave: Pandemia, COVID-19, SARS-CoV-2, requisitos, diagnóstico, Laboratorio clínico, instalaciones, equipos, personal, prevención y control de infección, OMS.

Solicitar copia a: MSc. Celsy Hernández (celsyhernandez@gmail.com)

MORE THAN 6 MONTHS AFTER THE PANDEMIC DECLARATION: LABORATORY FACILITIES, EQUIPMENT AND PERSONNEL REQUIREMENTS FOR THE DETECTION OF SARS-CoV-2 AND DIAGNOSIS OF COVID-19.

SUMMARY

Current available evidence indicates that the SARS-CoV-2 virus can be transmitted from infected people through secretions (such as respiratory and saliva), or respiratory droplets, which are droplets with diameters greater than 5-10 µm, which are expelled when an infected person coughs, sneezes, talks, or sings. This transmission occurs when a person susceptible to the infection comes into direct or close contact (less than 1 meter) with another infected person; which when talking, coughing, sneezing or singing, generates respiratory drops that reach the mucosa (mouth or nose) or conjunctiva (eyes) of the susceptible person. Additionally, as these respiratory droplets are too heavy to be transported through the air, they land on objects and surfaces surrounding the infected person on which the virus can remain viable. Other healthy people can become infected by touching contaminated objects or surfaces (fomites), and then by touching their nose, mouth, or eyes. Therefore, transmission can occur by direct or close contact (distances less than 1 meter) and by indirect contact (fomites). Furthermore, the virus can be transmitted by air through nucleus droplets, which are droplets with diameters less than 5 µm; that are generated during the execution of aerosol generating procedures, which can remain in the air for long periods of time and be transmitted to others, at distances greater than 1 meter. According to the WHO, health personnel, including laboratory personnel, are on the front lines of the response to the COVID-19 outbreak, and as such are exposed to multiple risks that predispose them to SARS infection-CoV-2, through the different possible transmission routes. More than 6 months after the declaration of the COVID-19 pandemic, this review specifies the requirements that laboratory facilities, equipment and personnel must currently meet for the detection of SARS-CoV-2 and diagnosis of COVID-19, through technical and biosafety procedures that allow the prevention and control of SARS-CoV-2 infection during health care, in accordance with the guidelines issued by the WHO. According to the WHO, in order to prevent and control the SARS-CoV-2 infection during health care, it is necessary for health personnel to: 1) Carry out adequate hygiene of the respiratory tract and hands, and use protective equipment Appropriate personnel (PPE) based on the risk assessment; 2) Carry out technical and biosafety practices and procedures appropriate to the performance of the work performed in patient care; and 3) Carry out a safe waste management and ensure adequate disinfection and sterilization of the environment and the equipment used. According to the WHO, all the practices and procedures that are carried out during the handling and processing of samples from suspected or confirmed COVID-19 patients, must be carried out in facilities and by properly equipped personnel, and with relevant technical and biosafety competence. The health personnel involved in the laboratory's own processes must be trained and be completely ethical and competent for the execution of all technical and biosafety procedures, which must remain fully documented and available in the workplace. Additionally, all operating procedures carried out by laboratory personnel must be executed under a prior risk assessment that guarantees the rights and duties of laboratory workers in relation to the protection of health and occupational safety.

Keywords: Pandemic, COVID-19, SARS-CoV2, requirements, diagnosis, Clinical laboratory, facilities, equipment, personnel, infection prevention and control, WHO.

Introducción

El Coronavirus 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS-CoV-2) (del inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2*) (1,2), es un un nuevo virus de la familia *Coronaviridae*, género *betacoronavirus*, subgénero *Sarbecovirus* (3,4), causante de la "Enfermedad por Coronavirus 2019" (COVID-19) (del inglés, *Coronavirus disease* 2019) (5), detectada por primera vez en el municipio de Wuhan en la provincia de Hubei, China; en diciembre 2019 (6,7); y declarada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una pandemia, el 11 de marzo de 2020 (8,9).

Según las secuencias de su genoma publicadas en el portal de la Iniciativa Global para Compartir Todos los Datos de la Influenza (GISAID) (del inglés, *Global Initiative on Sharing All Influenza Data*) (10,11), y las imágenes obtenidas por microscopia electrónica, el SARS-COV-2 consta de una estructura constituida por un RNA monocatenario positivo en la nucleocápside (N) y una envoltura (E), en la cual se encuentra una proteína de membrana (M) y una glucoproteína S (S), que forma unas espículas o espigas, que dan a la estructura infectiva, un aspecto similar al de una corona solar (3,4).

El análisis evolutivo del SARS-CoV-2 demuestra que

está emparentado con virus cuyo hospedador primario son algunas especies de murciélagos del género *Rhinolophus*, por lo que se postula que los murciélagos, son también el reservorio original. Sin embargo, tanto el Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS-CoV) (del inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus*), como el Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Medio Oriente (MERS-CoV) (del inglés, *Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus*), dos coronavirus zoonóticos que causan enfermedades graves en humanos y generaron brotes con anterioridad, saltaron a la especie humana a través de especies intermediarias, civetas (*Paradoxurus hermaphroditus*) y camellos (*Camelus dromedarius*), respectivamente; lo que hace sospechar que lo mismo ha sucedido en el origen del SARS-CoV-2; sin embargo, no se logra identificar el hospedador intermediario hasta los momentos, y se piensa que este virus pudo saltar a la especie humana a partir de un animal doméstico, un animal salvaje o un animal salvaje domesticado introducido en el mercado mayorista de pescados y mariscos de Huanan, en Wuhan. El análisis de las secuencias del genoma del SARS-CoV-2, indica que está muy bien adaptado a los receptores de células humanas, específicamente en la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA 2), lo que le permite invadir células humanas e infectar fácilmente a la especie (12,13).

De acuerdo con el resumen científico: "Transmisión del SARS-CoV-2-implicaciones para precauciones de prevención de infecciones" (en inglés, *Transmission of SARS-CoV-2- implications for infection prevention precautions: Scientific brief*), publicado por la OMS el 09 de julio de 2020, hasta el momento la evidencia disponible indica que el virus SARS-CoV-2, puede transmitirse desde las personas infectadas a través de secreciones (como las respiratorias y saliva), o gotitas respiratorias, las cuales son gotas con diámetros mayores a 5-10 µm, que se expulsan cuando una persona infectada tose, estornuda, habla o canta. Esta transmisión ocurre cuando una persona susceptible a la infección entra en contacto directo o cercano (menos de 1 metro) con otra persona infectada; la cuál al hablar, toser, estornudar o cantar, genera gotas respiratorias que alcanzan las mucosas (boca o nariz) o conjuntiva (ojos) de la persona susceptible. Adicionalmente, como estas gotas respiratorias son muy pesadas para ser transportadas por el aire, aterrizan en los objetos y superficies que rodean a la persona infectada sobre los cuales el virus puede permanecer viable dependiendo del entorno ambiental (incluida la temperatura y humedad) hasta 72 horas (plástico y acero inoxidable), 48 horas (vidrio) 24 horas (madera, cartón y tela) o 4 horas (cobre), dependiendo cual sea el caso. Otras personas sanas pueden infectarse al tocar objetos o superficies contaminados (fómites), y luego, al tocarse la nariz, boca u ojos. Por lo tanto, la transmisión del virus puede ocurrir por contacto directo o cercano (distancias menores a 1 metro) con la persona infectada o contacto indirecto a través de superficies u objetos contaminados con gotas respiratorias infectadas. Además, el virus puede transmitirse por vía aérea a través de núcleo gotas, las cuales son gotas con diámetros menores a 5 µm; que se generan durante la ejecución de procedimientos generadores de aerosoles (intubación traqueal, ventilación no invasiva, traqueotomía, reanimación cardiopulmonar, ventilación manual antes de la intubación, broncoscopia, inducción de esputo mediante el uso de solución salina hipertónica nebulizada y procedimientos de autopsia. No está claro si los aerosoles generados por la terapia con nebulizador o el suministro de oxígeno de alto flujo son infecciosos, ya que los datos al respecto aún son limitados), las cuales pueden permanecer en el aire durante largos periodos de tiempo y transmitirse a otros, a distancias superiores a 1 metro.

Según la OMS, de acuerdo a la evidencia actual disponible, en la mayoría de los casos la transmisión del SARS-CoV-2 parece ocurrir principalmente por gotas respiratorias y contacto cercano (menor a 1 metro) con personas infectadas. Por su parte, a pesar de la evidencia consistente en cuanto a la contaminación de objetos y superficies por SARS-CoV-2, así como la supervivencia del virus en ciertas superficies; no existen informes específicos que hayan demostrado la transmisión del virus través de fómites. Las personas que entran en contacto con superficies u objetos contaminados por lo general también tienen contacto directo o cercano (menores a 1 metro), con personas infectadas, haciendo muy difícil discernir entre ambas vías de transmisión. Sin embargo, la transmisión por fómites se considera un modo probable de transmisión del SARS-CoV-2, dado los hallazgos consistentes sobre la contaminación ambiental en la vecindad de los casos infectados y el hecho de que otros coronavirus y los virus respiratorios pueden transmitirse de esta manera. En cuanto a la transmisión aérea, la OMS junto con la comunidad científica, ha estado debatiendo y evaluando activamente si el SARS-CoV-2 también se puede propagar a través de aerosoles en ausencia de procedimientos de generación de aerosoles, particularmente en interiores y entornos con mala

ventilación. La física del aire exhalado y la física del flujo han generado hipótesis sobre los posibles mecanismos de transmisión del SARS-CoV-2 a través de aerosoles. Estas teorías sugieren que: 1) varias gotas respiratorias generan aerosoles microscópicos (gotas con diámetros menores a 5 μm) por evaporación; y 2) la respiración y el habla normal dan como resultado aerosoles exhalados. Por lo tanto, una persona susceptible podría inhalar aerosoles y podría infectarse si los aerosoles contienen el virus en cantidad suficiente para causar una infección en el receptor. Sin embargo, hasta el momento la proporción de núcleos gotas exhaladas o de gotas respiratorias que se evaporan para generar aerosoles, y la dosis infecciosa del SARS-CoV-2 viable requerido para causar infección en otra persona se desconocen. Algunos estudios realizados en entornos de atención médica donde se atendió a pacientes sintomáticos de COVID-19, reportaron la presencia de ARN del SARS CoV-2 en muestras de aire tomadas en entornos donde no se realizaron procedimientos generaron aerosoles, mientras que otros estudios similares en entornos sanitarios y no sanitarios no encontraron presencia de ARN del SARS-CoV-2, así como tampoco virus viables en las muestras de aire. Dentro de las muestras donde se encontró ARN del SARS-CoV-2, la cantidad de ARN detectada fue en números extremadamente bajos en grandes volúmenes de aire, y un estudio que encontró ARN del SARS-CoV-2 en muestras de aire, informó incapacidad para identificar virus viables. La detección de ARN mediante ensayos basados en la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa en tiempo real (rRT-PCR), no necesariamente es indicativa de la presencia de virus viable, competente para la replicación e infección, que podría transmitirse y ser capaz de infectar. Por lo tanto, según la OMS, hasta la fecha, la transmisión del SARS-CoV-2 por vía aérea en ausencia de procedimientos generadores de aerosoles no se ha demostrado y se requiere más investigación. Ciertos estudios experimentales han generado aerosoles de muestras infecciosas utilizando nebulizadores de chorro de alta potencia en condiciones controladas de laboratorio. Estos estudios encontraron ARN del virus SARS-CoV-2 en muestras de aire dentro de aerosoles hasta 3 horas durante un estudio y 16 horas en otro, que también encontró virus viables con capacidad de replicación. Sin embargo, es importante destacar que estos hallazgos se obtuvieron en aerosoles inducidos experimentalmente que no reflejan las condiciones normales de la tos humana. Por otro lado, informes clínicos recientes sobre personal sanitario expuesto a casos COVID-19, en entornos con ausencia de procedimientos generadores de aerosoles, no encontraron evidencia de transmisión nosocomial cuando se utilizaron adecuadamente las precauciones para evitar el contacto directo o cercano con gotitas respiratorias de pacientes infectados, incluidas la higiene de manos y el uso de mascarillas médicas como componente del equipo de protección personal en estos entornos, además de la ejecución de prácticas y procedimientos apropiados para la realización del trabajo durante la atención de los pacientes así como la desinfección del entorno y el manejo seguro de desechos. Estas observaciones sugieren que la transmisión por aerosoles no ocurrió en este contexto. Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar si es posible detectar SARS-CoV-2 viable en muestras de aire de entornos donde no se realizan procedimientos que generen aerosoles y qué papel podrían desempeñar estos aerosoles en la transmisión (14).

Es por ello, que en relación a la atención en salud, independientemente de las vías de transmisión del SARS-CoV-2 (transmisión por contacto directo o cercano, indirecto o aéreo), a fin de prevenir y controlar la infección por SARS-CoV-2 durante la atención en salud, es necesario que el personal sanitario: *1) Lleve a cabo una adecuada higiene de las vías respiratorias y de manos, y utilice el equipo de protección personal (EPP) adecuado en función de la evaluación del riesgo; 2) Lleve a cabo prácticas y procedimientos técnicos y de bioseguridad apropiados a la ejecución del trabajo realizado en la atención al paciente; y 3) Realice un manejo seguro de los desechos y vele por una adecuada desinfección y esterilización del entorno y del equipo utilizado* (15). Adicionalmente, de acuerdo las "Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección con el virus de COVID-19", publicada por PAHO/OMS el 08 de julio de 2020, todas las prácticas y procedimientos que se realicen durante el manejo y procesamiento de muestras de pacientes sospechosos o confirmados COVID-19, deben llevase a cabo en instalaciones y por personal debidamente equipado, y con competencia técnica y de bioseguridad pertinente (16). Así mismo, según la guía "Pruebas de laboratorio para enfermedad de coronavirus (COVID-19), en casos sospechosos humanos" (en inglés, *Laboratory testing for coronavirus disease* (COVID-19) in suspected human cases), publicada por la OMS el 19 de marzo de 2020; y la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Diagnostic testing for* SARS-CoV-2), publicada en su última versión por la OMS el 11 de septiembre de

2020; el personal sanitario involucrado en los procesos propios del laboratorio debe estar capacitado y ser completamente competente para la ejecución de todos los procedimientos técnicos y de bioseguridad, los cuales deben permanecer absolutamente documentados y disponibles en el lugar de trabajo. Adicionalmente, todos los procedimientos operativos llevados a cabo por el personal del laboratorio, deben ejecutarse bajo una previa evaluación de riesgos (17,18).

Esta revisión pretende precisar los requisitos de las instalaciones, los equipos y el personal del laboratorio, requeridos actualmente para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19, mediante procedimientos técnicos y de bioseguridad, que permitan prevenir y controlar la infección por SARS-CoV-2 durante la atención en salud, de acuerdo con las orientaciones emanadas por la OMS, a más de 6 meses de declaración de la pandemia por COVID-19.

Desarrollo

A. Instalaciones del laboratorio

En el "Plan estratégico de preparación y respuesta frente al COVID-19" (en inglés, COVID-19 S*trategic Preparedness and Response Plan*); publicado el 03 de febrero de 2020, la OMS desarrolló recomendaciones estratégicas para las pruebas de laboratorio, entre las cuales incluyen: *"...todos los países deben aumentar su nivel de preparación, alerta y respuesta para identificar, gestionar y atender nuevos casos de COVID-19; donde las pruebas de laboratorio son una parte integral de esta estrategia*" (19). De acuerdo con este plan estratégico, la OMS recomendó a todos los países prepararse para el brote de COVID-19 antes de detectar el primer caso. Esta preparación entre otras cosas debió incluir el establecimiento de capacidad operativa para detectar molecularmente el virus de COVID-19 en el país, mediante la disposición de instalaciones, equipos, reactivos, materiales, insumos, documentos y recurso humano competente requerido para llevar a cabo todos los procedimientos involucrados para tal fin, de una manera confiable y biosegura. En caso que esta capacidad no estuviera disponible; el país debía preparase para realizar el envío de muestras de "Casos sospechosos" a un laboratorio de referencia de la OMS, para la detección molecular del virus causante del COVID-19, mientras se establecía la capacidad para realizar las pruebas moleculares localmente. Cuando la capacidad operativa de realizar pruebas moleculares estuviera disponible a nivel nacional, se debió planificar entonces el incremento de dicha capacidad mediante el establecimiento de laboratorios descentralizados; públicos o privados; inclusive considerando aquellos del sector académico, bajo la coordinación y supervisión del laboratorio de referencia nacional para la detección molecular del virus; el cual casi siempre corresponde al centro nacional de referencia para influencia y virus respiratorios acreditados por la OMS. Además, cuando la capacidad de realización de pruebas moleculares estuviera limitado a un solo laboratorio de referencia, cuyas instalaciones se localizan en o cerca de una ciudad capital, y se restringiera el acceso oportuno a la realización de pruebas moleculares a aquellos "Casos sospechosos", que viven en otras partes del país; se debió considerar la posibilidad de disponer laboratorios moleculares móviles que puedan ser operados en zonas remotas (20).

En relación a la bioseguridad requerida en las instalaciones destinadas a la manipulación y procesamiento de muestras biológicas confirmadas o sospechosas de infección con el virus de la COVID-19, de acuerdo con las "Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV)", publicadas por la Organización Panamericana de la Salud, el 28 de enero de 2020; en primer lugar no se recomienda realizar ningún procedimiento que intente aislar el virus en cultivos celulares, a fin de evitar la amplificación y concentración de partículas virales (21). Sin embargo, en caso de que se lleven a cabo intentos para cultivar el virus, estos deben realizarse en Laboratorios de Contención con Nivel de Seguridad Biológica Nivel 3 (BSL-3) (del inglés *Biological Safety Level-3*) (17).

En segundo lugar, se indica que son requeridos Laboratorios de Seguridad Biológica Nivel 2 (BSL-2)) (del inglés *Biological Safety Level*-2), si se van a llevar a cabo prácticas de trabajo estándar para: 1) Examen histopatológico y procesamiento de tejidos fijados con formalina o tejidos inactivados; 2) Preparación de placas para análisis molecular con ácido nucleico viral ya extraído; 3) Estudios de microscopía electrónica con láminas fijadas con glutaraldehído; 4) Tinción de rutina y análisis microscópico de frotis fijos. 5) Empaque final de muestras para su transporte a laboratorios de diagnóstico para pruebas adicionales; y 6) Muestras inactivadas (muestras en tubos con tampón de extracción para ácidos nucleicos). En

tercer lugar, se indica que es requerida una Cámara de Seguridad Biológica (CSB) Clase II, para la realización de los siguientes procedimientos estándar: 1) Preparar alícuotas y/o diluir muestras; 2) Inoculación de medios de cultivo bacterianos o micológicos; 3) Realizar pruebas de diagnóstico que no impliquen la propagación de agentes virales *in vitro* o *in vivo* (preparación de láminas para Inmunofluorescencia, por ejemplo); 4) Procedimientos de extracción de ácido nucleico con muestras potencialmente infectadas; 5) Preparación y fijación química o térmica de frotis para análisis microscópico (21).

De acuerdo con la "Guía de bioseguridad del laboratorio relacionada a la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), (en inglés, *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease* 2019 (COVID-19)), publicada en su última versión por la OMS el 13 de mayo de 2020, el procesamiento inicial y la manipulación de las muestras sospechosas o confirmadas COVID-19, a través de distintos procedimientos generadores de salpicaduras, gotas o aerosoles (como por ejemplo carga o descarga de centrífugas, mezcla, agitación, preparación de alícuotas, apertura de contenedores cuya presión puede ser diferente a la presión ambiental, etc.); debe realizarse en una Cámara de Seguridad Biológica (CSB) Clase II, debidamente mantenida y validada; de acuerdo a las especificaciones del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, publicado por la OMS en 2005. Por su parte, el trabajo de diagnóstico no propagativo del laboratorio (por ejemplo, pruebas de rutina y moleculares en muestras sospechosas o confirmadas de COVID-19), debe llevarse a cabo en un Laboratorio Básico con Nivel de Seguridad Biológica 2 (BSL-2) (del inglés *Biological Safety Level-2*), es decir, en una instalación cuyo diseño, construcción, medios de contención, equipo así como prácticas y procedimientos implementados, tienen un nivel de bioseguridad 2, de acuerdo a la tercera edición del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, publicado por la OMS. Sin embargo, el trabajo de propagación con manipulaciones del virus vivo realizado por el laboratorio (por ejemplo, cultivos, ensayos de aislamiento o neutralización), debe llevarse a cabo solamente en Laboratorios de Contención con Nivel de Seguridad Biológica 3 (BSL-3) (del inglés *Biological Safety Level-3*); una instalación cuyo diseño, construcción, medios de contención, equipo así como prácticas y procedimientos implementados, tengan un nivel de bioseguridad 3, de acuerdo a la tercera edición del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, publicado por la OMS (22).

Según el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS (en inglés, *Manual Laboratory Biosafety*), publicado por la OMS en 2005; las Cámaras de Seguridad Biológica (CSB), están diseñadas para proteger al trabajador, la atmósfera del laboratorio y los materiales de trabajo de la exposición a las salpicaduras y los aerosoles infecciosos que pueden generarse al manipular material que contiene agentes infecciosos, como cultivos primarios, soluciones madre y muestras de diagnóstico. Los aerosoles se producen en cualquier actividad que transmita energía a un material líquido o semilíquido, por ejemplo, al agitarlo, verterlo a otro recipiente, removerlo o verterlo sobre una superficie o sobre otro líquido. Las actividades como la siembra de placas de agar, la inoculación de frascos de cultivo celular con pipeta, el uso de pipetas múltiples para dispensar suspensiones líquidas de agentes infecciosos en placas de microcultivo, la homogeneización y la agitación vorticial de material infeccioso, y la centrifugación de líquidos infecciosos o el trabajo con animales pueden generar aerosoles infecciosos. Las partículas de aerosol de menos de 5 mm de diámetro y las pequeñas gotículas de 5 a 100 mm de diámetro no son visibles a simple vista. El trabajador no suele darse cuenta que se están produciendo esas partículas, que pueden ser inhaladas o provocar la contaminación cruzada de los materiales que se encuentran sobre las superficies de trabajo. Las CSB, cuando se utilizan debidamente, han demostrado ser sumamente eficaces para reducir las infecciones adquiridas en el laboratorio y la contaminación cruzada por exposición a aerosoles.

En una Cámara de Seguridad Biológica Clase II (CSB-II); el aire de la sala entra a la cámara por un filtro de aire particulado de alta eficiencia (en inglés, *high efficiency particulate air, HEPA*); y una vez purificado y estéril, pasa por encima de la superficie de trabajo a una mínima velocidad de 0,38 m/s; y sale de la cámara por el conducto de extracción. La corriente de aire arrastra las partículas de aerosol que puedan generarse en la superficie de trabajo, alejándolas del trabajador y dirigiéndolas hacia el conducto de extracción. La abertura frontal permite que los brazos del trabajador lleguen a la superficie de trabajo del interior de la cámara mientras observa la superficie a través de una ventana de cristal. Esta ventana también puede levantarse por completo para tener acceso a la superficie de trabajo para limpiarla o con otros fines. El aire procedente de la cámara se evacua a través de un filtro HEPA; el cual retiene el 99,97 % de las partículas de 0,3mm de diámetro y el 99,99 % de las partículas de tamaño mayor

o menor; esto les permite retener eficazmente todos los agentes infecciosos conocidos y garantizar que de la cámara sólo sale aire exento de microorganismos. La evacuación del aire a través del filtro HEPA se realiza hacia: a) al laboratorio y a continuación al exterior del edificio a través del sistema de evacuación de aire del edificio; b) al exterior a través del sistema de evacuación de aire del edificio; o c) directamente al exterior. El filtro HEPA puede estar situado en la cámara de distribución del extractor de la CSB o en la salida de aire del edificio. Algunas CSB de clase II llevan integrado un ventilador de extracción, mientras que otras funcionan con el ventilador de evacuación de aire del sistema general del edificio (23).

Por su parte, el Laboratorio Básico con Nivel de Seguridad Biológica 2 (BSL-2), dispone de espacio suficiente y apropiado para realizar el trabajo de laboratorio en condiciones de seguridad y para la limpieza y el mantenimiento. Las paredes, los techos y los suelos son lisos (y el suelo es antiresbalante), fáciles de limpiar, impermeables a los líquidos y resistentes a los productos químicos y desinfectantes normalmente utilizados en el laboratorio. Las superficies de trabajo son impermeables y resistentes a desinfectantes, ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y calor moderado. La iluminación es adecuada para todas las actividades. En relación al mobiliario es robusto y espacioso entre sí (existe espacio entre mesas, armarios y otros muebles, así como debajo de los mismos, a fin de facilitar la limpieza). Hay espacio suficiente para guardar los artículos de uso inmediato, evitando así su acumulación desordenada sobre las mesas de trabajo y en los pasillos, así como espacio para el almacenamiento a largo plazo, convenientemente situado fuera de las zonas de trabajo. Adicionalmente, existe espacio e instalaciones adecuados para la manipulación y el almacenamiento seguros de materiales infecciosos y otros materiales peligrosos como disolventes, material radiactivo y gases comprimidos y licuados. Los locales para guardar la ropa de calle y los objetos personales se encuentran fuera de las zonas de trabajo del laboratorio. Los locales para comer y beber y para descansar se disponen fuera de las zonas de trabajo del laboratorio. En cada sala del laboratorio existen lava manos con agua corriente, instalados cercanos a la salida, con la restricción de acceso adecuada. Las puertas están provistas de mirillas y debidamente protegidas contra el fuego; de preferencia se cierran automáticamente. En el nivel de bioseguridad 2, el laboratorio dispone de al menos un autoclave u otro medio apropiado para la descontaminación de desechos, debidamente próximo al laboratorio. Los sistemas de seguridad comprenden medios y sistemas de protección contra incendios y emergencias eléctricas, así como duchas para casos de urgencia y medios para el lavado de los ojos. Existe al menos un local o sala de primeros auxilios, convenientemente equipado (con suficiente suministro de materiales y productos requeridos dentro de sus fechas de caducidad), y fácilmente accesible al personal. Si la ventilación se proporciona (incluidos sistemas de calefacción/refrigeración y especialmente ventiladores/unidades de aire acondicionado), se garantiza que los flujos no comprometan el trabajo seguro, teniendo en cuenta las velocidades y direcciones del flujo de aire resultante, evitando los flujos de aire turbulentos. Cuando se planifica una nueva instalación, se prevé un sistema mecánico de ventilación que introduzca aire del exterior sin recirculación. Cuando no se dispone de ventilación mecánica, las ventanas pueden abrirse, y a ser posible, están provistas de mosquiteros. Estos laboratorios cuentan con un suministro regular de agua de buena calidad, y no existe ninguna conexión entre las conducciones de agua destinada al laboratorio y las del agua de bebida. A su vez, el sistema de abastecimiento público de agua está protegido contra el reflujo por un dispositivo adecuado. Se dispone de un suministro de electricidad seguro y de suficiente capacidad, así como de un sistema de iluminación de emergencia que permite al personal salir del laboratorio en condiciones de seguridad. Normalmente, cuenta con un grupo electrógeno de reserva para alimentar los equipos esenciales, así como con un suministro fiable y adecuado de gas. Toda la instalación es objeto del debido regular mantenimiento. En relación al mobiliario y los materiales del laboratorio: 1) Su diseño permite limitar o evitar los contactos entre el trabajador y el material infeccioso; 2) Está construido con materiales impermeables a los líquidos, resistentes a la corrosión y acordes con las normas de resistencia estructural; 3) Carece de rebabas, bordes cortantes y partes móviles sin proteger; y 4) Está diseñado, construido e instalado con miras a simplificar su manejo y conservación, así como a facilitar la limpieza, la descontaminación y las pruebas de certificación; siempre que se pueda, se evita el material de vidrio y otro material rompible (23).

B. Equipos y procedimientos del laboratorio

Según la guía de la OMS, "Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección con el virus de COVID-19", todas las prácticas y procedimientos que se realicen durante el manejo y procesamiento de muestras de pacientes sospechosos

o confirmados COVID-19, deben llevase a cabo en instalaciones y por personal debidamente equipado, y con competencia técnica y de bioseguridad pertinente (16). De acuerdo con la OMS, a efectos del control y prevención de infección por el virus causante de COVID-19 durante la atención en salud, es necesario que el personal sanitario lleve a cabo una adecuada higiene respiratoria y de manos, utilice el equipo de protección personal (EPP) adecuado en función de la evaluación del riesgo, lleve a cabo prácticas y procedimientos técnicos y de bioseguridad apropiados a la ejecución del trabajo realizado en la atención al paciente, ejecute una gestión segura de desechos y vele por una adecuada desinfección y esterilización del entorno así como del equipo utilizado en la atención del paciente (15).

1. Higiene y equipo de protección personal (EPP)

Según la guía "Control y prevención de la infección durante la atención en salud cuando se sospecha de COVID-19" (en inglés, *Infection prevention and control during health care when COVID-19 is suspected*), actualizada por la OMS en su última versión el 29 de junio de 2020; en relación a la higiene respiratoria debe llevarse a cabo cubriendo la nariz y la boca con un pañuelo de papel desechable o con la parte interna del codo al toser o estornudar, cuando el personal de la salud no se encuentre usando la mascarilla médica; desechar el pañuelo correctamente y hacer higiene de las manos después de entrar en contacto con secreciones respiratorias al toser o estornudar. Por su parte, en relación a la higiene de las manos, el personal sanitario debe realizarla en los cinco momentos: 1) antes de tocar a un paciente, 2) antes de realizar cualquier procedimiento limpio o aséptico, 3) después de haber estado expuesto a líquidos corporales, 4) después de tocar a un paciente y 5) después de tocar el entorno de un paciente. Esta higiene de las manos consiste en lavarse las manos con agua y jabón (jabón líquido preferiblemente) o con desinfectante de manos a base de alcohol 70%. Es mejor lavarse las manos con desinfectante cuando las manos no estén visiblemente sucias; y hay que lavarse con agua y jabón cuando las manos estén visiblemente sucias.

En relación al Equipos de Protección Personal, según la OMS, el personal sanitario debe utilizar de forma correcta y racional el Equipo de Protección Personal (EPP), a fin de reducir la exposición y propagación de agentes patógenos. El personal sanitario debe llevar una bata de manga larga limpia y no estéril, y utilizar mascarillas médicas, guantes y gafas de seguridad (a cambio de las gafas también puede utilizar protector facial para proteger las mucosas). En el caso de realización de procedimientos en entornos donde se generen aerosoles (en donde se realice intubación traqueal, ventilación no invasiva por ejemplo, BiPAP, CPAP, traqueotomía, reanimación cardiopulmonar, ventilación manual antes de la intubación, broncoscopia, inducción de esputo mediante el uso de solución salina hipertónica nebulizada y procedimientos de autopsia); adicionalmente el personal sanitario debe utilizar bata desechable, y en vez de mascarilla médicas, utilizar un respirador de protección contra partículas con un nivel de protección mínimo de N95 (Mascarilla filtradora de 95% de partículas certificado con la Norma 95 del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo de los Estados Unidos), FFP2 (Pieza Facial Filtrante del 94% de partículas certificado Norma de la Unión Europea149), FFP3 (Pieza Facial Filtrante del 99% de partículas certificado Norma de la Unión Europea 149) o equivalente; así como un delantal impermeable para los procedimientos que impliquen grandes volúmenes de líquidos que podrían atravesar la bata (15).

En relación al personal del laboratorio, las batas deben usarse para evitar que la ropa personal sea salpicada o contaminada por agentes biológicos. Estas batas deben tener manga larga, preferiblemente con puños elásticos o ajustados (las mangas nunca deben enrollarse), deben cubrir al menos hasta la rodilla (pero no deben llegar al piso), y deben usarse cerradas. Siempre que sea posible la tela de la bata debe ser resistente a salpicaduras y superponerse para proporcionar un frente sólido. Sólo deben usarse en áreas designadas, y cuando no estén en uso deben almacenarse adecuadamente; no deben colgarse sobre otras batas, o en armarios o ganchos con artículos particulares. Las batas deben quitarse y descontaminarse si se mojan, ensucian o salpican de productos químicos, sustancias infecciosas o fluidos corporales, además deben quitarse y descontaminarse al brindar atención fuera de la cohorte designada de pacientes con COVID-19. El uso prolongado de batas puede aumentar el riesgo de contaminación con el virus COVID-19, y el riesgo de transmisión de otros patógenos entre pacientes. El proceso para descontaminar las batas de algodón mediante métodos de lavado y desinfección incluye, lavar a máquina con agua tibia (60-90 ° C) y detergente para ropa. Si no es posible lavar a máquina, se pueden remojar en agua caliente y jabón en un tambor grande, usando un palo

para revolver, evitando salpicaduras. Luego, se deben sumergir en una solución de cloro al 0.05% durante aproximadamente 30 minutos. Finalmente, se deben enjuagar con agua limpia y secar completamente al sol.

En cuanto a los guantes desechables, se deben usar en todos los procedimientos que involucren un contacto planificado o inadvertido con fluidos biológicos potencialmente infecciosos. Los guantes no deben desinfectarse ni reutilizarse, ya que esto reduce su integridad y disminuye su capacidad de protección al usuario.

El personal del laboratorio debe utilizar mascarilla y gafas de seguridad (o en su defecto protector facial), para proteger las mucosas y conjuntivas. La protección respiradora mediante el uso de respiradores N95, FFP2, FFP3 o similares, no figura entre los requisitos básicos del personal del laboratorio, sin embargo, en el contexto actual de la COVID-19, es necesario llevar a cabo una evaluación del riesgo local para determinar si es necesario el uso de protección respiratoria, especialmente cuando se realicen procedimientos generadores de gotas, salpicaduras y aerosoles fuera de la CSB, recordando que lo recomendado es que todos estos procedimientos (por ejemplo, centrifugación, carga o descarga de centrífugas, mezcla, agitación, agitación con vortex, preparación de alícuotas, apertura de contenedores cuya presión puede ser diferente a la presión ambiental, etc.), se realicen en Cámaras de Seguridad Biológica Clase II (22); y que además, se empleen otros dispositivos de contención física apropiados como por ejemplo, cubetas de seguridad de centrífuga y rotores sellados para la centrifugación (21).

Adicionalmente, cuando el personal del laboratorio realice toma de muestras respiratorias a través de procesos generadores de aerosoles (por ejemplo, inducción del esputo), o en entornos donde se realicen procedimientos generadores de aerosoles, como las Unidades de Cuidados Intensivos, UCI); debe utilizar respirador N95, FFP2, FPP3 o su equivalente, en vez de mascarilla médicas (21). Al colocarse el respirador es importante que el personal compruebe siempre la estanqueidad/ajuste, teniendo en cuenta que la presencia de vello facial (por ejemplo, barba), puede impedir un ajuste adecuado del mencionado respirador. De igual manera, en los casos anteriormente mencionados, el personal deberá utilizar delantal impermeable cuando la bata que utilice no sea resistente a los fluidos (24). Por su parte, si el laboratorio, es un Laboratorio de Contención con Nivel de Seguridad Biológica 3 (BSL-3) (del inglés *Biological Safety Level-3*), en el cual se realizan trabajos de propagación con manipulaciones de virus vivos; como por ejemplo cultivo y ensayos de aislamiento viral; el personal sanitario involucrado en el proceso debe usar guantes, respiradores N95, FFP2, FFP3 o equivalente, gafas o protector facial, overol con magas que cubran completamente los antebrazos, cubierta para la cabeza y botas o fundas para los zapatos, como mínimo (22).

De acuerdo con la guía "Requerimientos para uso de equipos de protección personal (EPP) para el nuevo coronavirus (2019-nCoV) en establecimientos de salud", publicada por la Organización Panamericana de la Salud, el 06 de febrero de 2020; la descripción y especificaciones técnicas de los equipos de protección personal (EPP); en el contexto COVID-19 es (25):

Tabla 1. Descripción y especificaciones técnicas de los equipos de protección personal (EPP) en el contexto COVID-19.

Artículo	Descripción y especificaciones técnicas
Mascarillas médicas	Mascarilla médica/quirúrgica, con alta Filtración, transpirabilidad y resistencia a los fluidos. Las caras internas y externas deben estar claramente identificadas. Con diseño estructurado que no se colapse contra la boca (por ejemplo, pato, en forma de copa). EN 14683 Rendimiento IIR tipo ASTM F2100 nivel 2 o nivel 3 o equivalente; Transpirabilidad: MIL–M-36945C, EN 14683 anexo C, o equivalente; Resistencia a fluidos a una presión mínima de 120 mmHg basada en ASTM F1862-07, ISO 22609 o equivalente
Guantes	Guantes no estériles de examen, de nitrilo, sin polvo, no estéril. La longitud del manguito alcanza preferentemente a la mitad del antebrazo (por ejemplo, una longitud total mínima de 280 mm). Diferentes tamaños. Directiva estándar de la UE 93/42/CEE Clase I, EN 455, Directiva estándar de la UE 89/686/CEE Categoría III, EN 374ANSI/ISEA 105-2011, ASTM D6319-10 o equivalente. Guantes estériles quirúrgicos, de nitrilo, sin polvo, uso único. Los guantes deben tener puños largos, llegando muy por encima de la muñeca, idealmente a la mitad del antebrazo. Directiva estándar de la UE 93/42/EEC Clase I, EN 455, ANSI/ISEA 105- 2011, ASTM 6319-10 o equivalente

Tabla 1. Descripción y especificaciones técnicas de los equipos de protección personal (EPP) en el contexto COVID-19. Cont. 2

Artículo	Descripción y especificaciones técnicas
Protector facial	Con buen sello contra la piel de la cara, marco de PVC flexible para encajar fácilmente con todos los contornos de la cara con presión uniforme, hermético en los ojos y las áreas circundantes, Ajustable para los usuarios con anteojos graduados, lente de plástico transparente con tratamientos antiempañante y a los arañazos, banda ajustable para asegurar firmemente que no se desajuste durante la actividad clínica, Ventilación indirecta para evitar el empañamiento, Puede ser reutilizable (siempre que existan disposiciones apropiadas para la descontaminación) o desechable. Directiva estándar de la UE 86/686/CEE, EN 166/2002, ANSI/ISEA Z87.1-2010, o equivalente
Gafas	Hecho de plástico transparente y proporciona una buena visibilidad tanto para el usuario como para el paciente, banda ajustable para sujetar firmemente alrededor de la cabeza y ajustarse cómodamente contra la frente, antiempañante (preferible), que cubra completamente los lados y la longitud de la cara, puede ser reutilizable (hecho de material robusto que se pueda limpiar y desinfectar) o desechable. Directiva de la UE estándar 86/686/CEE, EN 166/2002, ANSI/ISEA Z87.1-2010, o equivalente.
Respiradores N95, FPP2 o FFP3	Mascarilla filtradora de 95% de partículas certificado con la Norma 95 del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo de los Estados Unidos (NIOSH), FFP2 (Pieza Facial Filtrante con 94% de filtrado certificado Norma de la Unión Europea149), FFP3 (Pieza Facial Filtrante con 99% de filtrado certificado Norma de la Unión Europea 149) o equivalente. Buena transpirabilidad con diseño que no colapsa contra la boca (por ejemplo, pato, en forma de copa).
Bata desechable	De uso único, resistente a fluidos, desechable, longitud hasta la mitad de la pantorrilla para cubrir la parte superior de las botas, preferiblemente colores claros para detectar mejor la posible contaminación, bucles de pulgar / dedo o puño elástico para anclar las mangas en su lugar. Opción 1: resistente a la penetración de fluidos: EN 13795 de alto rendimiento, o AAMI PB70 nivel 3 o superior, o equivalente. Opción 2: patógenos transmitidos por la sangre resistente a la penetración: AAMI PB70 nivel 4 rendimiento, o (EN 14126-B) y protección parcial del cuerpo (EN 13034 o EN 14605), o equivalente.
Delantal impermeable	Hechas de poliéster con revestimiento de PVC o 100% PVC o 100% caucho. Impermeable. Peso base mínimo: 250 g/m^2. Correa para el cuello ajustable (reutilizable). Tamaño de la cubierta: 70-90 cm (ancho) X 120-150 cm (alto), o tamaño estándar para adultos

Fuente: PAHO/WHO. Requerimientos para uso de equipos de protección personal (EPP) para el nuevo coronavirus (2019-nCoV) en establecimientos de salud. Recomendaciones interinas. PHAO [Internet] 06 febrero 2020 [Citado 03 de abril de 2020] Disponible en:http:// www.paho.org › documentos › requerimientos-para-us...

De acuerdo con la OMS, después de atender al paciente, el personal sanitario debe quitarse todo el EPP, deshacerse de él y lavarse las manos siguiendo las directrices de la higiene de manos. Para la atención de otro paciente debe utilizar un nuevo EPP. El equipo médico debe ser de uso único y desechable, o de uso individual (por ejemplo, estetoscopios, tensiómetros y termómetros). Si el equipo tiene que utilizarse con varios pacientes, tendrá que limpiarse y desinfectarse entre cada paciente (por ejemplo, con alcohol 70%). El personal sanitario debe evitar tocarse los ojos, la nariz o la boca con las manos (tanto con guantes como sin guantes), si existiese la posibilidad de que se hubiesen contaminado. PPara que el uso del EPP sea eficaz y eficiente, es necesario que se suministren unidades de calidad de forma regular y oportuna, y que el personal sanitario esté bien formado en su uso (sobre cómo ponerse y quitarse el EPP), lleve a cabo una adecuada y correcta higiene de manos, y tenga un comportamiento especialmente cumplido y cuidadoso en la ejecución de sus labores, así como una retroalimentación eficaz en este sentido por parte del personal involucrado en la Prevención y Control de Infecciones (PCI) (15). Según la OMS, en relación específica al uso de mascarillas, se recomienda que los profesionales sanitarios deben usarla cada vez que entren en una habitación o sala (cohorte), donde se hayan ingresado a casos sospechosos o confirmados de infección por SARS-CoV-2, y durante la atención a los casos sospechosos o confirmados. Además, como se mencionó anteriormente, es necesario usar respirador con filtro de partículas que proporcione al menos la misma protección que el N95, FFP2, FPP3 u otra equivalente; durante la ejecución de todos aquellos procedimientos que generen aerosoles.

Para el uso de estos EPP, es necesario que el personal sanitario realice higiene de las manos antes de ponerse la mascarilla, se coloque la mascarilla con gran cuidado, procurando cubrir la boca y la nariz; ajustando la mascarilla al puente de la nariz y asegurando que quede bien sujeta para disminuir cualquier posible separación entre el rostro y la mascarilla. La mascarilla médica no se debe tocar cuando se lleva puesta, ni siquiera para ajustarla o si se desplaza de la cara; si esto sucede, la mascarilla debe retirarse y reemplazarse de manera segura. Después de quitarse o tocar inadvertidamente una mascarilla usada, el personal sanitario debe lavarse las manos con una solución hidroalcohólica, o con agua y jabón. Cuando la mascarilla esté visiblemente sucia o húmeda, debe sustituirse por otra limpia y seca; evitando reutilizar las mascarillas de un solo uso; y desechando inmediatamente las mascarillas de un solo uso una vez utilizadas (26).

Para efectos de la Organización Mundial de la Salud, y su guía "Consejos para el uso de mascarilla en el contexto COVID-19" (en inglés, Advice on the use of mask en context of COVID-19), publicada en su última versión el 05 de junio de 2020, es importante que el personal sanitario sea consciente que el uso de máscara médicas es una de las medidas de prevención que pueden limitar la propagación de ciertas enfermedades virales respiratorias, incluido COVID-19. Las máscaras médicas se pueden usar para proteger a las personas sanas (se usan para protegerse a sí mismo cuando están en contacto con una persona infectada) o para el control de la fuente (las usa una persona infectada para evitar la transmisión). Sin embargo, el uso de una máscara por si sola es insuficiente para proporcionar un nivel adecuado de protección, por lo que también se deben adoptar otras medidas como el cumplimiento máximo de la higiene de manos, y otras acciones para el control y prevención de la transmisión de COVID-19 de persona a persona.

En áreas donde hay transmisión comunitaria (conocida o sospechada) o brotes a gran escala de COVID-19, se ha adoptado el enmascaramiento universal y uso continuo de mascarilla en centros asistenciales a fin de reducir el potencial de transmisión por parte de los trabajadores de salud y cualquier persona que ingrese al centro asistencial. De acuerdo con la OMS, el enmascaramiento universal en los establecimientos de salud se define como el requisito de usar una máscara por parte de todos los trabajadores de la salud y cualquier persona que ingrese al establecimiento, sin importar qué actividades se realicen, mientras que el uso continuo de mascarillas médicas se define como la práctica de usar una mascarilla médica por parte de todos los trabajadores de la salud durante todas las actividades de rutina durante todo el turno. En este contexto, las mascarillas solo se cambian después de asistir a un paciente frente al que hay que adoptar precauciones contra gotículas o contacto por otros motivos (por ejemplo, gripe), a fin de evitar la posibilidad de contagio cruzado, si las mascarillas se ensucian, se mojan o se dañan, o si el trabajador de salud se quita la mascarilla (por ejemplo, para comer o beber). Actualmente, no hay estudios que hayan evaluado la efectividad y los posibles efectos adversos del uso continuo de mascarillas universales por parte de los trabajadores de la salud para prevenir la transmisión del SARS-CoV-2. Sin embargo, a pesar de la falta de evidencia, la gran mayoría de los miembros del Grupo *ad hoc* de Desarrollo de Orientaciones sobre la Prevención y Control de la infección COVID-19 de la OMS (OMS COVID-19 IPC GDG), apoyan la práctica de los trabajadores de la salud en los establecimientos sanitarios (independientemente de si hay pacientes sospechosos o confirmados COVID-19 en las áreas clínicas o si el personal involucrado brinda atención directa a los pacientes con COVID-19), en entornos geográficos donde se sabe o se sospecha que existe transmisión comunitaria de COVID-19.

En relación al uso de mascarillas y respiradores, éste Grupo *ad hoc* de Desarrollo de Orientación de Prevención y Control de la infección COVID-19 de la OMS (OMS COVID-19 IPC GDG), considerando la evidencia disponible hasta los momentos sobre los modos y vías de transmisión del SARS-CoV2, y el uso de mascarillas médicas versus respiradores en relación a su efectividad para proteger a los trabajadores de la salud de la infección, posibles beneficios y daños así como la disponibilidad, implicaciones de costos y compras, factibilidad y equidad de acceso de los respiradores por parte de los trabajadores de la salud en todo el mundo; reafirmó las recomendaciones previamente emitidas por la OMS que incluyen:

1) En ausencia de PGA, la OMS recomienda que los trabajadores de la salud que brindan atención directa a los pacientes con COVID-19 usen una mascarilla médica (además de otros EPP que forman parte de las precauciones contra gotas y contacto);

2) En entornos de atención para pacientes con COVID-19 donde se realizan PGA (por ejemplo, unidades de cuidados intensivos y semi-intensivos COVID-19), la OMS recomienda que los trabajadores de la salud usen un respirador (estándar N95 o FFP2 o FFP3 o equivalente).

Así mismo, en relación al enmascaramiento universal y uso continuo de mascarilla (o respiradores en entornos donde se realicen procedimientos generadores de aerosoles), según este Grupo *ad hoc* de Desarrollo de Orientaciones sobre la Prevención y Control de la infección COVID-19 de la OMS, es importante tener en cuenta los daños y riesgos potenciales a los que conlleva esta práctica, entre los que se encuentran:

1) Autocontaminación debido a la manipulación de la mascarilla/respirador por manos contaminadas;
2) Potencial autocontaminación que puede ocurrir si las mascarillas/respiradores no se cambian cuando están mojados, sucios o dañados;
3) Posible desarrollo de lesiones cutáneas faciales, dermatitis irritante o acné que empeora, así como dificultades respiratorias (más frecuentes con los respiradores), cuando se usa con frecuencia durante largas horas;
4) Falsa sensación de seguridad, que conduce a un posible menor cumplimiento de las medidas preventivas bien reconocidas, como el distanciamiento físico y la higiene de manos;
5) Riesgo de transmisión de gotitas y de salpicaduras a los ojos, si el uso de mascarilla/respirador no se combina con protección ocular;
6) Desventajas o dificultad para usarlos por parte de poblaciones vulnerables específicas, como aquellos con trastornos de salud mental, discapacidades del desarrollo, la comunidad de personas sordas o con problemas de audición y los niños;
7) Dificultad para usarlos en ambientes cálidos y húmedos.
8) Problemas de disponibilidad y acceso a las mascarillas/respiradores para el uso universal y continuo por parte del personal sanitario, en un contexto mundial de grave escases y desabastecimiento de EPP.
9) Riesgo del uso de máscaras de tela como alternativa a las máscaras médicas, las cuales no se consideran apropiadas para la protección del personal sanitario, según la evidencia limitada disponible.

En relación a este último punto, es importante acotar que según la OMS, un estudio que evaluó el uso de mascarillas de tela en un centro de atención médica encontró que los trabajadores de la salud que usaban máscaras de tela de algodón tenían un mayor riesgo de contraer una enfermedad similar a la influenza en comparación con aquellos que usaban máscaras médicas. En las mascarillas de tela, el grosor de la tela y los estándares de tejido varían ampliamente; por tanto, se desconoce la barrera (eficacia de filtración) contra los microorganismos que atraviesan el tejido. Además, las mascarillas de tela de algodón no son resistentes a los fluidos y, por lo tanto, pueden retener la humedad, contaminarse y actuar como una fuente potencial de infección. Aunque se han realizado algunos estudios para máscaras de tela que utilizan materiales sintéticos hidrófobos en la capa exterior, no hay evidencia actual que demuestre que estos funcionen adecuadamente como EPP para entornos de salud. Por ende, de acuerdo con la OMS, es importante tener en cuenta que el uso de mascarillas médicas por parte de personas sanas en la comunidad puede desviar este recurso, por lo que en entornos donde hay escasez de mascarillas médicas, estas deben reservarse para los trabajadores de la salud y las personas en riesgo cuando esté indicado.

En relación a este tema, según la OMS, hasta el momento el uso generalizado de mascarillas por las personas sanas en la comunidad no se apoya en datos de investigación de buena calidad o directos, y por ello, conviene sopesar los posibles riesgos y beneficios. Sin embargo, teniendo en cuenta los estudios conocidos en que se evalúa la transmisión presintomática y asintomática, la cantidad cada vez mayor de datos de observación sobre el uso de mascarillas por el público general en varios países, los valores y preferencias individuales así como la dificultad para lograr el distanciamiento físico en muchas situaciones, la OMS aconseja como parte de un enfoque integral para interrumpir la transmisión del SARS-CoV-2, principalmente a través de la posible reducción del riesgo potencial de exposición de la persona infectada (control de fuente), antes de que estas presenten síntomas (presintomáticas), que los gobiernos deben alentar al público general a que use mascarilla de tela (personas sanas no vulnerables) o mascarilla médica (grupos vulnerables entre los que se incluyen personas mayores de 60 años, con enfermedades concomitantes, tales como afecciones cardiovasculares o diabetes mellitus, neumopatía crónica, cáncer, enfermedad cerebrovascular e inmunodepresión), en ciertas situaciones y entornos específicos:

1) Tiendas de comestibles, centros de trabajo, reuniones sociales, reuniones multitudinarias, entornos cerrados, incluidas escuelas, iglesias, mezquitas, etcétera en zonas de transmisión extensa confirmada o presunta y capacidad escasa o nula para aplicar otras medidas de contención tales como el distanciamiento físico, la localización de contactos, las pruebas apropiadas, el aislamiento y la atención de los casos presuntos y confirmados;

2) Lugares densamente poblados donde no se puede lograr el distanciamiento físico; vigilancia epidemiológica y capacidad para efectuar pruebas, y medios de aislamiento y cuarentena escasos como zonas de hacinamiento, campamentos, campos de refugiados, etc.;

3) Entornos donde no puede lograrse el distanciamiento físico (contacto estrecho) como en el transporte público y ciertos trabajos donde los empleados están en contacto estrecho real o potencial con otros, por ejemplo, asistentes sociales, cajeros, camareros.

Así mismo, de acuerdo con la OMS, si la producción de mascarillas de tela para uso en entornos de atención médica se propone localmente en situaciones de escasez o desabastecimiento, una autoridad local debe evaluar el EPP propuesto de acuerdo con estándares mínimos específicos y especificaciones técnicas, así como de su seguridad y eficacia en la protección del personal sanitario contra la infección por el virus causante de la COVID-19.

Según la OMS, una característica actual de las mascarillas de tela, llamadas también higiénicas (es decir, no médicas), es que están hechas de una variedad de telas tejidas o sin tejer de materiales como el polipropileno; y confeccionadas con distintas combinaciones de telas, capas y formas; que da lugar a una variabilidad muy amplia en relación a su filtración y transpirabilidad, lo que hace más difícil su evaluación sistemática.

Las mascarillas higiénicas no son dispositivos médicos ni forman parte del equipo de protección personal del personal sanitario; sin embargo, la Asociación Francesa de Normalización (Grupo AFNOR), ha ideado y consensuado una norma para las mascarillas higiénicas con miras a definir un desempeño mínimo exigible en función de la filtración (filtración mínima del 70% para partículas sólidas o gotículas) y la transpirabilidad (diferencia máxima de presión de 0,6 mbar/cm2 o resistencia máxima a la inhalación de 2,4 mbar y resistencia máxima a la exhalación de 3 mbar). En razón de los requisitos normalizados menores de filtración y transpirabilidad, así como el desempeño general previsto, el uso de las mascarillas higiénicas, hechas de telas tejidas o sin tejer, debería reservarse únicamente para el control de fuentes (es decir, por personas infectadas) en la comunidad, pero no como medida de prevención. Pueden usarse en actividades concretas (por ejemplo, en el transporte público cuando no es posible el distanciamiento físico), y siempre complementadas con higiene de las manos frecuente y distanciamiento físico. Las autoridades que aconsejen el uso de este tipo de mascarilla deberán tener en cuenta las siguientes características: eficiencia de filtración (EF) o filtración, transpirabilidad, número y combinación de los materiales utilizados, forma, revestimiento y mantenimiento (27).

En relación a la escasez y desabastecimiento global de los equipos de protección personal (EPP), en la guía "Uso racional del equipos de protección para enfermedad por coronavirus (COVID-19) y consideraciones durante su severa escasez (en inglés, *Rational use of personal protective equipment for coronavirus disease (COVID-19) and considerations during severe shortages*", publicada en su última versión el 06 de abril de 2020, la OMS indica ciertas estrategias que pueden facilitar la disponibilidad de estos equipos para el personal sanitario, entre las que se incluyen: 1) Minimizar su necesidad en entornos de atención sanitaria; 2) Garantizar su uso racional y apropiado (según el entorno, el tipo de personal y la actividad del personal sanitario); y 3) Coordinar los mecanismos de gestión de la cadena de su suministro. De acuerdo con la OMS, en el contexto de una grave escasez de EPP a pesar de la aplicación de las estrategias mencionadas anteriormente, es crucial asegurar una respuesta de "toda la sociedad" y proteger a los trabajadores de atención médica de primera línea. Esto incluye abogar por el aumento urgente de la producción y disposición de EPP, así como prevenir el uso irracional de EPP a nivel comunitario, entre otras estrategias. Sin embargo, cualquier estrategia o enfoque alternativo para encontrar soluciones temporales para mitigar la escasez crítica de EPP debe basarse en evidencia científica, los principios de la prestación de atención segura y la seguridad de la atención médica; la minimización de la carga de trabajo para los trabajadores de la salud, y evitar una falsa sensación de seguridad.

Con base en la evidencia actual, y en consulta con expertos internacionales y otras agencias en el campo de control y prevención de infecciones, la OMS consideró cuidadosamente las medidas temporales de último recurso en crisis, que pueden adoptarse solo en situaciones de grave escasez de EPP o en áreas donde estos equipos no pueden estar disponibles, la cuales incluyen: 1) El uso extendido del EPP (por periodos más largos de lo normal según las normas);2) Reprocesamiento seguido de utilización (después de limpieza o descontaminación/esterilización) del EPP reutilizable o desechable; y 3) Considerar elementos alternativos en comparación con los estándares recomendados por la OMS. Sin embargo, la OMS hace

hincapié en que estas medidas temporales deben evitarse tanto como sea posible, y sobretodo, cuando se atiendan pacientes con COVID-19 graves o críticamente enfermos, y para pacientes con coinfecciones por microorganismos multirresistentes transmitidos por contacto o gotas respiratorias.

1) Uso extendido del EPP

Para llevar a cabo el uso del EEP durante períodos de tiempo más largos prologados según las normas, además del periodo de tiempo adicional estipulado para cada EPP, se deben considerarse los criterios para la eliminación de dichos equipos respectivamente. De acuerdo con la OMS, en relación al uso prolongado de las mascarillas médicas y los respiradores:

a) Uso prolongado

Las mascarillas médicas/respiradores (N95, FFP2, PPF3 o similar), pueden usarse sin remover hasta 6 horas, cuando se atiende a una cohorte de pacientes con COVID-19.

b) Criterios de eliminación

La mascarilla médica/respirador (N95, FFP2, PPF3 o similar), debe extraerse y eliminarse si se moja, ensucia o daña, o si se vuelve difícil respirar; se expone a salpicaduras de productos químicos, sustancias infecciosas o fluidos corporales; se desplaza de la cara por cualquier motivo o se toca la parte delantera para ajustarla. Además, debe quitarse siempre que se brinde atención fuera de una cohorte designada de pacientes con COVID-19. No se recomienda el uso de la misma mascarilla médica/respirador (N95, FFP2, PPF3 o similar), por parte de un trabajador de la salud entre un paciente con COVID-19 y un paciente que no tiene COVID-19, debido al riesgo de transmisión a otro paciente que sería susceptible a COVID-19.

Adicionalmente, según la OMS otra opción a parte del uso prolongado, es el uso de PPE más allá de la vida útil designada por el fabricante o la fecha de vencimiento por un tiempo limitado. Para ello, los elementos deben inspeccionarse antes de su uso para asegurarse que estén en buenas condiciones sin degradación, roturas o desgaste que puedan afectar el rendimiento. Una mascarilla o respirador vencido aún puede ser eficaz para proteger al proveedor de atención médica, siempre y cuando las correas están intactas, no hallan signos visibles de daño y se pueden probar. Los proveedores de atención médica deben inspeccionar la mascarilla y realizar una verificación de sellado antes de usarla.

2) Reprocesamiento seguido de reutilización del EPP reutilizable o desechable.

La reutilización de cualquier artículo sin un proceso de reprocesamiento mediante desinfección/esterilización se considera inadecuada e insegura. Muchos dispositivos médicos están diseñados para ser reutilizables, de ahí su compatibilidad con los métodos de descontaminación/esterilización, para lo cual siempre que se dispongan y sea posible, se deben seguir las instrucciones de los fabricantes. Este no es el caso de los máscaras médicas y respiradores (N95, FFP2, PPF3 o similar), ya que normalmente para cualquier método de reprocesamiento, se requiere limpieza antes de la desinfección y esterilización, lo que representa un problema para las máscaras y los respiradores, que no se pueden limpiar sin perder sus propiedades. De acuerdo con la OMS, en relación al reprocesamiento seguido de reutilización de las mascarillas médicas y los respiradores:

1) Mascarillas médicas

No hay evidencia de calidad disponible hasta la fecha sobre el reprocesamiento de mascarillas médicas y no se recomienda.

2) Respiradores (N95, FFP2, PPF3 o similar)

Los aspectos clave a evaluar para considerar aceptable un método de reprocesamiento son: a) la eficacia del método para desinfectar/esterilizar el equipo; b) la preservación de la filtración del respirador; c) la preservación de la forma del respirador y, por tanto, de su ajuste; y d) la seguridad para la persona que usa el respirador (por ejemplo, efecto tóxico después del reprocesamiento).

a) Métodos para el reprocesamiento de respiradores.

Existen algunos métodos no validados hasta los momentos, pero aparentemente útiles para el reprocesamiento de los respiradores, como el vapor de peróxido de hidrógeno y óxido de etileno así como la lámpara de radiación ultravioleta. Tanto el vapor de peróxido de hidrógeno como el óxido de etileno fueron favorables en algunos estudios, pero limitados por los modelos de respiradores evaluados. Por su parte, el uso de radiación ultravioleta puede ser una alternativa potencial; sin embargo, el bajo poder de

penetración de la luz ultravioleta puede no alcanzar los materiales internos del respirador o atravesar pliegues. Los parámetros de desinfección mediante el uso de luz UVC aún no están completamente estandarizados con el propósito de reprocesar respiradores, por lo que se requiere un procedimiento de validación para asegurar que todas las superficies internas y externas del respirador sean alcanzadas por la luz UVC con el tiempo de irradiación apropiado. Adicionalmente, se debe evitar el daño, la toxicidad o la pérdida de la eficiencia de filtración del respirador; debido al lavado, esterilización con vapor a 134 ° C, desinfección con lejía/hipoclorito de sodio o alcohol, o irradiación en horno microondas. Los hornos microondas han demostrado algunos efecto biocida cuando se combina con la humedad; sin embargo, los problemas que requieren una consideración cuidadosa incluyen: 1) la falta de una revisión sustancial de las capacidades de radiación estándar de los hornos de microondas con la desinfección del respirador, 2) la incapacidad de garantizar controles para la distribución uniforme del vapor, y 3) la preocupación de que la banda de metal para la nariz de los respiradores genere combustión.

b) Limitaciones /Riesgos

Los métodos de reprocesamiento de respiradores no han sido validados por investigaciones sustanciales y actualmente no existen métodos o protocolos estandarizados para asegurar la efectividad o integridad de los respiradores después del reprocesamiento. Se desconoce la vida útil de los respiradores reprocesados; sin embargo, la degradación del medio de filtración o de la banda elástica después de uno o más ciclos de esterilización afecta el ajuste de un respirador a la cara. El daño a la forma de los respiradores debido al reprocesamiento puede afectar las propiedades de ajuste y protección. El número de ciclos de reprocesamiento es muy variable, según el método de reprocesamiento utilizado y la marca / modelo del respirador.

c) Criterios y precauciones de eliminación:

Después de un número predefinido de reutilizaciones, el respirador debe desecharse en un recipiente de desechos apropiado de acuerdo con las pautas / políticas locales. Cuando se quita un respirador de la cara, debe colocarse inmediatamente en un recipiente designado para su reprocesamiento y etiquetarse con el nombre del usuario original. El respirador debe devolverse al usuario original después del ciclo de reprocesamiento.

3) Considerar elementos alternativos en comparación con los estándares.

De acuerdo con la OMS, no se ha demostrado que sea eficaz y se desaconseja el reemplazo del PPE estándar por artículos producidos con materiales que no tienen los requisitos necesarios (por ejemplo, máscaras de tela de algodón para reemplazar las máscaras médicas o los respiradores). Si la producción de cualquier EPP para uso en entornos de atención médica se propone localmente en situaciones de escasez o desabastecimiento, una autoridad local debe evaluar el EPP propuesto de acuerdo con normas mínimas específicas y especificaciones técnicas, así como debe ser evaluada su seguridad y eficacia.

En relación a las alternativas a las mascarillas médicas y los respiradores, según la OMS se puede utilizar respiradores FFP1 como alternativa de elección a falta de mascarillas médicas, y pantalla facial con diseño adecuado para cubrir los lados de la cara y debajo del mentón, solo en la situación crítica de emergencia por falta de mascarillas médicas, ya que tiene el riesgo de exposición directa de la boca, la nariz y los ojos a las gotitas, dependiendo del diseño y del posicionamiento del dispositivo de protección en relación con el paciente. Los protectores faciales al igual que las gafas protectoras pueden reprocesarse para su reutilización lavándose con jabón/detergente y agua, y luego desinfectarse con hipoclorito de sodio al 0,1% durante 10 minutos, seguido de enjuague con agua limpia o toallitas con alcohol al 70%. Por su parte, no existe hasta los momentos ningún elemento alternativo que pueda utilizarse en lugar de los respiradores. Es importante destacar que, de acuerdo con la OMS, cada una de estas medidas (uso prolongado, reprocesamiento y reutilización, así como el empleo de elementos alternativos en comparación con los estándares recomendados para los EPP), conlleva riesgos y limitaciones importantes y, por lo tanto, debe considerarse solo como último recurso cuando se

hayan agotado todas las demás estrategias para el uso racional y apropiado del EPP.

2. Prácticas y procedimientos técnicos y de bioseguridad

a. Buenas prácticas y procedimientos microbiológicos

De acuerdo con la "Guía de bioseguridad del laboratorio relacionada a la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), (en inglés, *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019* (COVID-19)), publicada en su última versión por la OMS el 13 de mayo de 2020; los procedimientos diagnósticos no propagativos, como todos aquellos procedimientos rutinarios del laboratorio, incluyendo las pruebas moleculares y demás pruebas de rutina realizadas en muestras de suero, sangre, orina, heces y muestras respiratorias (como por ejemplo, hisopos nasofaríngeos y orofaríngeos, lavado o aspirado nasal, aspirado endotraqueal/nasofarígeo, lavado broncoalveolar o esputo); así como pruebas y cultivos micóticos y bacterianos a partir de todos tipo de muestras incluyendo las provenientes del tracto respiratorio); deben llevarse a cabo de acuerdo a las buenas prácticas y procedimientos microbiológicos (en inglés, *Good microbiological practice and procedure, GMPP*), entre los que se incluyen: 1) Nunca almacene alimentos o bebidas, ni artículos personales como abrigos y bolsos en el laboratorio. Las actividades como comer, beber, fumar y/o aplicar cosméticos sólo debe realizarse fuera del laboratorio; 2) Nunca coloque materiales, como bolígrafos, lápices o goma de mascar en la boca mientras está dentro del laboratorio, sin importar si tiene las manos enguantadas o no; 3) Lávese bien las manos, preferiblemente con agua corriente tibia y jabón, después de manipular cualquier material biológico, incluidos animales, antes de abandonar el laboratorio, y en cualquier momento que sepa o sospeche que hay contaminación presente en las manos; 4) Asegúrese que nunca se coloquen llamas abiertas o fuentes de calor cerca de suministros inflamables y que nunca se dejen desatendidas; 5) Asegúrese de colocar las cubiertas sobre cualquier corte o piel rota antes de ingresar al laboratorio; 6) Asegúrese, antes de ingresar al laboratorio, que los suministros de equipos y consumibles de laboratorio, incluidos reactivos, EPP y desinfectantes, sean suficientes y apropiados para las actividades que se realizan; 7) Asegúrese que los suministros se almacenen de manera adecuada (es decir, de acuerdo a las instrucciones de almacenamiento), y de manera segura, para reducir la posibilidad de accidentes o incidentes tales como derrame, tropezones o caídas para el personal de laboratorio; 8) Asegure el etiquetado adecuado de todos los agentes biológicos y materiales químicos y radiactivos; 9) Proteja los documentos escritos de la contaminación utilizando barras como revestimientos de plástico), particularmente aquellos que pueden necesitar ser retirados del laboratorio; 10) Asegúrese que el trabajo se realice con cuidado, de manera oportuna y sin prisa. Se debe evitar trabajar cuando está fatigado; 11) Asegúrese que el trabajo se realice con cuidado, de manera oportuna y sin prisa. Se debe evitar trabajar cuando está fatigado; 12) Mantenga el área de trabajo ordenada, limpia y libre de desorden y materiales que no sean necesarios para el trabajo que realiza; 13) Prohibir el uso de auriculares, que pueden distraer el personal y evitar que se escuchen las alarmas de los equipos o las instalaciones; 14) Cubra o quítese apropiadamente cualquier joyería que pueda rasgar el material de los guantes, contaminarse fácilmente o actuar como fómite para la infección. Si se usa regularmente, se debe considerar la limpieza y descontaminación de las joyas o gafas; 15) Absténgase de usar dispositivos electrónicos móviles (por ejemplo, teléfonos móviles, tabletas, computadoras portátiles, unidades flash, tarjetas de memoria, cámaras y/u otro dispositivo portátil, incluidos los utilizados para la secuenciación de ADN/ARN), cuando no se requieran específicamente para los procedimientos de laboratorio realizados; 16) Mantenga los dispositivos electrónicos móviles en áreas donde no puedan contaminarse fácilmente o actuar como fómites para la infección. Cuando sea inevitable la proximidad de dichos dispositivos a los agentes biológicos, asegúrese de que estén protegidos por una barrera física o que estén descontaminados antes de abandonar el laboratorio; 17) Durante los procedimientos técnicos está estrictamente prohibido pipetear con la boca; 18) No coloque ningún material en la boca ni pase la lengua por las etiquetas; 19) Evite la inhalación de agentes biológicos; 20) Use buenas prácticas para minimizar la formación de aerosoles y gotas al manipular muestras. Todos los procedimientos técnicos deben aplicarse de manera que se reduzca al mínimo la formación de aerosoles y gotículas; 21) Evite la ingestión de agentes biológicos y el contacto con la piel y los ojos; 22) Use guantes desechables en todo momento cundo manipule muestras; 23) Evite el contacto de las manos enguantadas con la cara; 24) Proteja la boca, los ojos y la cara durante los procedimientos donde pueden producirse salpicaduras; 25) Siempre que sea posible, reemplace cualquier material de vidrio con material de plástico; 26) Para trabajos que necesiten tijeras, use

tijeras con extremos romos o redondeados, en lugar de aquellos con extremos puntiagudos; 27) Manipule todos los objetos punzantes, jeringas y agujas, si es necesario, con cuidado para evitar las lesiones e inyecciones de agentes biológicos; 28) Use abridores de ampollas para manejar con seguridad las ampollas; 29) Nunca vuelva a tapar, cortar o quitar las agujas de las jeringas desechables; 30) Deseche los materiales punzantes (por ejemplo, agujas, agujas combinadas con jeringas, cuchillas, vidrio roto), en recipientes a prueba de pinchazos o resistentes a pinchazos equipados con tapas selladas; 31) Prevenga la dispersión de agentes biológicos: a) Deseche las muestras y cultivos para su eliminación en recipientes a pruebas de fugas con la parte superior debidamente asegurada antes de su eliminación en contenedores de residuos específicos; b) Considere abrir los tubos con una gasa/gasa empapada con desinfectante; c) Descontamine las superficies de trabajo con un desinfectante adecuado al final de la realización de los procedimientos de trabajo y si se derrama algún material o está obviamente contaminado; d) Asegúrese que el desinfectante sea eficaz contra el patógeno que se manipula y se deje en contacto con los materiales de desecho infeccioso durante el tiempo suficiente para lograr la inactivación completa (22).

b. Desinfección y esterilización de instalaciones y equipos

Según la guía "Control y prevención de la infección durante la atención en salud cuando se sospecha de COVID-19" (en inglés, *Infection prevention and control during health care when COVID-19 is suspected*), actualizada en su última versión el 29 de junio de 2020 por la OMS, a fin de prevenir y controlar la infección por el virus del COVID-19, es importante asegurar que se apliquen de manera correcta y sistemática los procedimientos de limpieza y desinfección que permitan la descontaminación del entorno y las instalaciones, así como de los equipos y materiales, que estuvieron en contacto con pacientes infectados o sus secreciones, a fin de reducir cualquier papel que puedan desempeñar los fómites en la transmisión del COVID-19 en entornos sanitarios y no sanitarios (15).

1) Limpieza y desinfección de instalaciones y equipos

De acuerdo con la tercera edición del "Manual de bioseguridad básico en el laboratorio ", publicado por la OMS en 2005:

a) Limpieza

La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, escombros y materia orgánica, e incluye cepillado, aspiración, desempolvado en seco, lavado o el fregado (u otra acción mecánica) con un paño y agua con jabón o detergente neutro. La suciedad, escombros y la materia orgánica (sangre, secreciones y excreciones), pueden albergar microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germicidas químicos y desinfectantes), ya sea impidiendo el contacto directo del desinfectante con los agentes patógenos y/o inactivando las propiedades germicidas o el modo de acción de varios desinfectantes. Por ello, la limpieza que elimina y reduce la suciedad, los escombros y materia orgánica, ayudando a eliminar los patógenos o reducir significativamente su carga en superficies contaminadas, es un primer paso esencial para conseguir una correcta desinfección. Adicionalmente, por esta misma razón, es importante tener en cuenta que para la limpieza se deben utilizar materiales que sean químicamente compatibles con los germicidas que vayan a utilizarse después, por lo que es muy frecuente utilizar el mismo germicida químico para la limpieza previa y la desinfección (23).

b) Desinfección

Para una correcta desinfección de las superficies del espacio, las instalaciones, el mobiliario y el equipo de laboratorio, es necesario considerar el tipo y concentración del desinfectante, el tiempo de contacto, así como la metodología utilizada para la desinfección (28).

De acuerdo con la guía "Limpieza y desinfección de superficies ambientales en el contexto de COVID-19" (en inglés, *Cleaning and disinfection of environmental surfaces in the context of COVID-19*), publicada por la OMS en su última versión el 15 de mayo de 2020; la selección de desinfectantes debe tener en cuenta los microorganismos objetivo, así como la concentración y el tiempo de contacto recomendados, la compatibilidad de los desinfectantes químicos y las superficies a abordar, la toxicidad, la facilidad de uso y la estabilidad del producto.

En el contexto COVID-19, la elección del desinfectante para superficies ambientales en entornos de atención médica debe considerar la reducción logarítmica (orden decimal de magnitud) para el virus SARS-CoV-2 y también para otros patógenos asociados con la atención médica. Hasta ahora, la evidencia sugiere que el SARS-CoV-2 es susceptible a desinfectantes con actividad comprobada contra virus envueltos entre los que se incluyen el hipoclorito de sodio, el etanol y el peróxido de hidrógeno, cuyas siguientes concentraciones son capaces de lograr una reducción

> 3 $\log^{10}$ del coronavirus humano:

a) Hipoclorito de sodio al 0,1% (1000 partes por millón [ppm]) para la desinfección general de las superficies y al 1% (10.000 [ppm]) para la desinfección de derrames de sangre u otras secreciones;

b) Etanol 62-71% ;

c) Peróxido de hidrógeno 0,5%;

d) Compuestos de amonio cuaternario, y compuestos fenólicos, también pueden ser eficaces si se usan de acuerdo a las indicaciones del fabricante, mientras que otros agentes biocidas como el cloruro de benzalconio al 0.05–0.2% o el digluconato de clorhexidina al 0.02% pueden ser menos efectivos.

En relación al tiempo de acción, se recomienda al menos 1 minuto de tiempo para la acción de estos desinfectantes o el recomendado de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se debe aplicar suficiente solución desinfectante para permitir que las superficies permanezcan húmedas y sin tocar el tiempo correcto para que el desinfectante inactive los patógenos, según lo recomendado por el fabricante. Las recomendaciones de los fabricantes para el manejo y uso seguro, así como para evitar mezclar tipos de desinfectantes químicos, deben tenerse siempre en cuenta al preparar, diluir, aplicar o dejar actuar un desinfectante a fin de prevenir efectos adversos como la corrosión del metal y otros materiales, así como la irritación de la piel, las membranas mucosas y/o las vías respiratorias, por el uso indebido de cloro en elevadas concentraciones. Es importante que los desinfectantes, así como los equipos (dispositivos y utensilios), empleados para la limpieza y desinfección de las superficies y derrames, se encuentren en adecuadas condiciones para su uso, bien mantenidos, vigentes, y además eficientemente suministrados y fácilmente accesibles al personal encargado de dichas tareas.

En cuanto a la metodología empleada para la desinfección, debe estar basada en procedimientos operativos estándar versados en recomendaciones y pautas para la no transferencia y eficaz eliminación de patógenos (por ejemplo, preparar nuevas soluciones de detergente y/o desinfectante en cada turno, usar paños nuevos al comenzar una nueva sesión de limpieza y de cada sala, recambiar la soluciones de detergente y/o desinfectante después de cada uso en áreas con pacientes sospechosos o confirmados COVID-19, reprocesar los paños sucios y otros equipos adecuadamente con los métodos y frecuencias requeridas, etc.), así como detallados con una delimitación clara de responsabilidades (por ejemplo, personal de limpieza o clínico/laboratorio), con respecto al tipo de superficies y la frecuencia de limpieza.

El personal de limpieza debe recibir formación y ser competente en la ejecución de los procedimientos técnicos y de bioseguridad pertinentes al oficio, incluyendo las prácticas de distanciamiento físico, higiene (respiratoria y de manos), así como del uso apropiado del EPP, el cual debe ser garantizado y accesible de forma regular y oportuna, e incluir racionalmente como mínimo mascarilla médica, bata, guantes resistentes, protección para los ojos y botas o zapatos de trabajo cerrados, aunque también adicionalmente pueden ser requeridos uniformes con mangas largas y batas y/o delantales impermeables así como protector facial a cambio de gafas, para aquel personal encargado de la preparación de las soluciones desinfectantes debido al mayor tiempo de exposición a los desinfectantes durante la jornada.

En el entorno sanitario, la frecuencia de la desinfección depende del área y el tipo de superficie a desinfectar. Las superficies y elementos de alto contacto (interruptores de luz, mostradores, mesas, sillas, barandas, manijas de puertas, grifos, fregaderos, inodoros, entre otros), deben desinfectarse con mayor frecuencia, generalmente entre 2 o 3 veces al día, dependiendo del entorno sanitario en que se encuentre (laboratorio, área de triaje, habitaciones de cohorte, habitaciones de pacientes, hospitalizados ocupadas, habitaciones de pacientes desocupadas, sala de atención ambulatoria, pasillos, baños, etc.). Generalmente, la desinfección de entornos sanitarios ocupados debe concentrarse principalmente en superficies de alto contacto, mientras que las limpiezas y desinfecciones en entornos desocupadas (cuando terminan los turnos o las habitaciones/salas de pacientes se desocupan), debe realizarse en superficies de bajo contacto, luego de alto contacto, y por último, en el piso (28).

De acuerdo con la tercera edición del "Manual de bioseguridad básico en el laboratorio", publicado por la OMS en 2005, en el laboratorio, adicionalmente a la limpieza y desinfección de las superficies del espacio, las instalaciones, y el mobiliario, también debe llevarse a cabo la desinfección/esterilización especifica de las superficies de equipos de instalación como las CSB, mediante vaporización de formaldehído empleando métodos manuales o dispositivos automatizados incorporados a la CSB (23). Sin embargo, según la guía " Limpieza y desinfección de superficies ambientales

en el contexto de COVID-19" (en inglés, *Cleaning and disinfection of environmental surfaces in the context of COVID-19*), publicada por la OMS en su última versión el 15 de mayo de 2020; éste tipo de métodos de desinfección al igual que los métodos basados en nebulización con compuestos de amonio cuaternario o compuestos a base de cloro, no se recomienda para ser usado rutinariamente en la desinfección en otras superficies de espacios interiores en otros entornos sanitarios, debido a que pueden resultar en riesgo para los ojos, irritación respiratoria o cutánea, y otros efectos nocivos para la salud de los trabajadores sanitarios. Por ello, algunos países han aprobado tecnologías sin contacto para la desinfección por nebulización con agentes químicos (por ejemplo, peróxido de hidrógeno vaporizado), en entornos de atención de la salud. Sin embargo, estas tecnologías complementan, pero no reemplazan la necesidad de procedimientos de limpieza exhaustivos manuales. Así mismo, se ha propuesto el uso de la radiación germicida ultravioleta (UVGI) como una medida complementaria de limpieza del aire, sin embargo, actualmente hay evidencia limitada de su efectividad para prevenir la transmisión de patógenos respiratorios en las instalaciones de atención médica. Además, existen preocupaciones sobre los posibles efectos adversos porque la UVGI puede ser absorbida por las superficies externas de los ojos y la piel, lo que lleva a queratoconjuntivitis y dermatosis. Por último, es importante tener en cuenta que los métodos de fumigación o pulverización, como métodos de desinfección primaria son ineficaces para eliminar los contaminantes fuera de las zonas de contacto, y que bajo ningún motivo o circunstancia se recomienda rociar a las personas con desinfectantes (como en un túnel, gabinete o cámara), ya que esto podría ser física y psicológicamente dañino (puede provocar irritación de los ojos y la piel, broncoespasmo por inhalación y efectos gastrointestinales como náuseas y vómitos, entre otros) (28).

En cuanto a la desinfección de los dispositivos y materiales del laboratorio, de acuerdo con la tercera edición del "Manual de bioseguridad básico en el laboratorio", publicado por la OMS en 2005, estas deben llevarse a cabo a través de esterilización por calor. El calor es el agente físico más utilizado para la descontaminación de patógenos. El calor "seco", que no es en absoluto corrosivo, se utiliza para tratar muchos materiales de laboratorio que pueden soportar temperaturas de 160 °C o más durante dos a cuatro horas, mientras que el calor "húmedo" es especialmente eficaz cuando se utiliza en autoclave.

La aplicación de vapor de agua saturado a presión (tratamiento en autoclave) es el medio más eficaz y fiable para esterilizar material del laboratorio. Para la mayoría de los propósitos, diversos ciclos (3 minutos a 134 °C; 10 minutos a 126 °C; 15 minutos a 121 °C o 25 minutos a 115 °C), garantizan la esterilización del contenido de la autoclave siempre que se haya cargado correctamente. El material, los recipientes y las bolsas que se vayan a esterilizar deben agruparse sin apretarlos ni sobrecargar la cámara, de modo que el vapor de pueda circular y penetrar sin dificultad en la carga, y el aire pueda salir y ser evacuado fácilmente. Es pertinente que al usar autoclave se sigan las siguientes reglas para reducir al mínimo los riesgos derivados del manejo de cualquier recipiente a presión: 1) El manejo y el mantenimiento ordinario deben ser responsabilidad de personas adiestradas; 2) Se realizará a intervalos regulares un programa de mantenimiento preventivo que comprenderá la inspección de la cámara, el sellado de las puertas y todos los calibradores y controles por parte de personal calificado; 3) El vapor de agua estará saturado y exento de sustancias químicas (por ejemplo, inhibidores de la corrosión), que podrían contaminar los objetos que se están esterilizando; 4) Todo el material debe colocarse en recipientes que permitan una fácil evacuación del aire y una buena penetración del calor; la cámara no estará sobrecargada, de modo que el vapor alcance por igual a toda la carga; 5) En las autoclaves que no dispongan de un dispositivo de seguridad que impida que la puerta se abra cuando la cámara está sometida a presión, es indispensable que la válvula central del vapor esté cerrada y que se deje descender la temperatura por debajo de 80 °C antes de abrir la puerta; 6) Cuando se introduzcan líquidos en la autoclave, la evacuación debe ser lenta, pues al sacarlos pueden hervir debido al sobrecalentamiento; 7) Los trabajadores deben llevar guantes y viseras de protección apropiadas al abrir la autoclave, incluso cuando la temperatura haya bajado por debajo de los 80 °C; 8) En la vigilancia regular del funcionamiento de la autoclave, se colocarán indicadores biológicos o termopares en el centro de cada carga. La vigilancia regular mediante termopares y dispositivos de registro colocados en una carga "más desfavorable" es sumamente conveniente para determinar los ciclos de funcionamiento más adecuados; 9) El filtro de la rejilla de drenaje de la cámara (si existe) debe retirarse y limpiarse todos los días; y 10) Debe procurarse que las válvulas de descarga de las autoclaves de olla a presión no queden bloqueadas por papel u otro material presente en la carga (23).

2) Descontaminación de equipos/materiales y eliminación de desechos

a) Descontaminación de equipos/materiales

Según la "Guía de bioseguridad del laboratorio relacionada a la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), (en inglés, *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease* 2019 (COVID-19)), publicada en su última versión por la OMS el 13 de mayo de 2020; deben adoptarse procesos adecuados para la identificación y segregación de materiales contaminados antes de su descontaminación dentro del laboratorio y su posterior eliminación. Cuando no pueda realizarse la descontaminación en el área del laboratorio, los desechos contaminados deben empaquetarse de manera apropiada (a prueba de fugas), para ser transferidos a otra instalación con capacidad para la descontaminación o incineración, para su ulterior eliminación (22).

De acuerdo con el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS (en inglés, *Manual Laboratory Biosafety*), publicado por la OMS en 2005; se considera desecho todo aquello que debe descartarse. Por ello, en los laboratorios, la descontaminación y la eliminación de desechos son operaciones estrechamente relacionadas. Como se mencionó anteriormente, el tratamiento en autoclave de vapor constituye el método de elección para todos los procesos de descontaminación. El material destinado a la descontaminación y eliminación debe introducirse en recipientes (por ejemplo, en bolsas de plástico resistentes al tratamiento en autoclave), que tengan un código de color para indicar si el contenido ha de pasar a la autoclave o a la incineración. Debe adoptarse un sistema de identificación y separación del material infeccioso y sus recipientes, el cual debe seguir las normas nacionales e internacionales y tener en cuenta las siguientes categorías:

1) Desechos no contaminados (no infecciosos) que puedan reutilizarse o reciclarse o eliminarse como si fueran "basura" en general;
2) Objetos cortantes y punzantes contaminados (infecciosos): agujas hipodérmicas, bisturís, cuchillas, vidrio roto; se recogerán siempre en recipientes a prueba de perforación dotados de tapaderas y serán tratados como material infeccioso;
3) Material contaminado destinado al tratamiento en autoclave que después pueda lavarse y volverse a utilizar o reciclarse;
4) Material contaminado destinado al tratamiento en autoclave y a la eliminación; y
5) Material contaminado destinado a la incineración directa.

En relación a los objetos cortantes y punzantes, las agujas hipodérmicas no se deben volver a tapar, cortar ni retirar de las jeringuillas desechables después de utilizarlas. El conjunto completo debe colocarse en un recipiente de eliminación específico. Las jeringuillas desechables, utilizadas con o sin aguja, se introducirán en recipientes de eliminación apropiados y se incinerarán, esterilizándolas previamente en autoclave si fuera necesario. Los recipientes de eliminación de objetos cortantes y punzantes serán resistentes a la perforación y no se llenarán por completo. Cuando estos recipientes estén llenos en sus tres cuartas partes se colocarán en un recipiente de "desechos infecciosos" y se incinerarán, esterilizándolos primero en autoclave si la práctica del laboratorio lo exige. Los recipientes de eliminación de objetos cortantes y punzantes no se desecharán en vertederos. En cuanto al material contaminado (potencialmente infeccioso) para ser tratado en autoclave y reutilizado, no se efectuará limpieza alguna de ningún material contaminado (potencialmente infeccioso) que vaya a ser tratado en autoclave y reutilizado, cualquier limpieza o reparación que se revele necesaria se realizará siempre después del paso por la autoclave o la desinfección. Por su parte, con respecto al material contaminado (potencialmente infeccioso) para ser eliminado a parte de los objetos cortantes y punzantes; debe ser introducido en recipientes impermeables (por ejemplo, en bolsas de plástico que resistan el tratamiento en autoclave marcadas con un código de color) y tratado en autoclave antes de proceder a su eliminación. Después de pasar por la autoclave, el material puede colocarse en recipientes apropiados para ser transportado al incinerador. Si es posible, el material procedente de actividades relacionadas con la atención sanitaria no debe desecharse en vertederos, ni siquiera después de haber sido descontaminado. Los recipientes de transporte de material contaminado (potencialmente infeccioso) reutilizables, deben ser impermeables y tener tapas que ajusten debidamente. Se desinfectarán y limpiarán antes de devolverlos al laboratorio para un uso ulterior. En cada puesto de trabajo deben colocarse recipientes, tarros o cubetas para desechos, de preferencia irrompibles (por ejemplo, de plástico). Cuando se utilicen desinfectantes, los materiales de desecho

deben permanecer en contacto íntimo con éstos (es decir, sin estar protegidos por burbujas de aire), durante el tiempo apropiado, según el desinfectante que se utilice. Los recipientes para desechos habrán de ser descontaminados y lavados antes de su reutilización (23).

b) Eliminación de desechos

En cuanto a la eliminación de desechos, la incineración es un método útil para eliminar del laboratorio los cadáveres de animales y los desechos anatómicos y de otro tipo, con o sin descontaminación previa. Sin embargo, la incineración de material infeccioso solo sustituye al tratamiento en autoclave si el incinerador está sometido a control del laboratorio. Una incineración correcta exige disponer de un medio eficiente de control de la temperatura y de una cámara de combustión secundaria. Muchos incineradores, especialmente los que tienen una sola cámara de combustión, no resultan satisfactorios para tratar material infeccioso, cadáveres de animales y plásticos. Esos materiales quizá no se destruyan por completo y el efluente de la chimenea puede contaminar la atmósfera con microorganismos, sustancias químicas tóxicas y humo. No obstante, hay muchas configuraciones satisfactorias de las cámaras de combustión; lo ideal es que la temperatura en la cámara primaria sea de al menos 800 °C y en la cámara secundaria de al menos 1000 °C previamente, deben transportarse al incinerador en bolsas, preferiblemente de plástico. Los encargados del incinerador deben recibir instrucciones apropiadas acerca de la carga y el control de la temperatura. También cabe señalar que el funcionamiento eficiente de un incinerador depende en gran medida de que la combinación de materiales en los residuos que se están tratando sea la adecuada. Las posibles repercusiones ambientales negativas de los incineradores existentes o en proyecto siguen siendo motivo de preocupación, y prosiguen los esfuerzos encaminados a que los incineradores sean más compatibles con el entorno y más eficientes en el uso de energía. En general, las cenizas procedentes de los incineradores pueden tratarse igual que la basura doméstica corriente y ser evacuada por los servicios locales, mientras que los desechos de la autoclave pueden ser eliminados en vertederos autorizados o por incineración fuera del laboratorio. La eliminación de los desechos médicos y de laboratorio está sometida a varias reglamentaciones regionales, nacionales e internacionales (23).

C. Personal

De acuerdo con la guía "Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección con el virus de COVID-19", publicada por PAHO/OMS el 08 de julio de 2020; todas las prácticas y procedimientos que se realicen durante el manejo y procesamiento de muestras de pacientes sospechosos o confirmados COVID-19, deben llevase a cabo por personal debidamente equipado, y con competencia técnica y de bioseguridad pertinente (16). Así mismo, según la guía "Pruebas de laboratorio para enfermedad de coronavirus (COVID-19), en casos sospechosos humanos" (en inglés, *Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases*), publicada por la OMS el 19 de marzo de 2020; y la guía "Pruebas diagnósticas para SARS CoV2" (en inglés, *Diagnostic testing for SARS CoV2*), publicada en su última versión por la OMS el 11 de septiembre de 2020; el personal sanitario involucrado en los procesos propios del laboratorio debe estar capacitado y ser completamente competente para la ejecución de todos los procedimientos técnicos y de bioseguridad, los cuales deben permanecer absolutamente documentados y disponibles en el lugar de trabajo. Adicionalmente, todos los procedimientos operativos llevados a cabo por el personal del laboratorio, deben ejecutarse bajo una previa evaluación de riesgos (17,18).

1. Competencias del personal

Según la "Guía de bioseguridad del laboratorio relacionada a enfermedad por coronavirus (COVID-19) (en inglés, *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease* 2019 (COVID-19)), publicada en su última versión el 13 de mayo de 2020; la OMS recomienda que en el contexto COVID-19, como mínimo el personal de laboratorio esté familiarizado, sea consciente y comprenda la información relativa al diseño e instalaciones del laboratorio, manuales de seguridad, prácticas y procedimientos para el trabajo de laboratorio en condiciones de seguridad (Buenas prácticas y procedimientos microbiológicos, GMPP), protección personal, evaluación de riesgo, los procedimientos de respuesta ante emergencia, así como las pautas y requisitos locales y legislativos pertinentes. Los requisitos de capacitación pueden variar según las funciones en el laboratorio, sin embargo, en general todo el personal involucrado en el manejo de agentes biológicos debe estar capacitado en GMPP. Además, debe conocer los peligros presentes en el laboratorio y sus riesgos

asociados, y estar capacitado en métodos para llevar a cabo procedimientos de trabajo riesgosos de forma segura, así como en los procedimientos de respuesta a emergencias (22).

La capacitación del personal del laboratorio debe comprender siempre la enseñanza de métodos seguros para llevar a cabo procedimientos peligrosos que habitualmente afectan a todo el personal de laboratorio y que entrañan los siguientes riesgos: 1) Riesgo de inhalación (es decir, formación de aerosoles): uso de asas, siembra de placas de agar, pipeteo, preparación de frotis, apertura de recipientes de cultivo, toma de muestras de sangre/suero, centrifugación, entre otros; 2) Riesgo de ingestión al manipular muestras, frotis y cultivos; 3) Riesgo de inoculación cutánea al emplear jeringuillas y agujas; 4) Riesgo de mordeduras y arañazos en la manipulación de animales; 5) Manipulación de sangre y otros materiales patológicos potencialmente peligrosos; y 6) Descontaminación y eliminación de material infeccioso (23).

Esta capacitación debe estar seguida de una evaluación de competencias, que se realiza antes de la ejecución del trabajo. La evaluación de competencias debe realizarse periódicamente, al igual que la actualización de la capacitación en función de información nueva disponible en el contexto COVID-19. En relación a esta capacitación, es importante tener en cuenta, que incluso cuando se realiza un trabajo de bajo riesgo y el personal está capacitado y sigue todos los requisitos básicos para la seguridad, aún pueden ocurrir incidentes. Para reducir las probabilidades de exposición/liberación de un agente biológico, o para reducir las consecuencias de tales incidentes, se debe desarrollar un plan de contingencia que proporcione procedimientos operativos específicos a seguir, que se apliquen en el ambiente local y el trabajo, en posibles escenarios de emergencia. El personal debe estar capacitado en estos procedimientos y debe recibir actualización de la capacitación en forma periódica a fin de mantener la competencia (22).

2. Evaluación de riesgo

Según la OMS, la evaluación de riesgos es un proceso sistemático de recopilación de información y evaluación de probabilidad y las consecuencias de la exposición o liberación de riesgos en el lugar de trabajo, y la determinación de medidas de control de riesgos apropiadas para reducir el riesgo a un nivel aceptable. Es importante tener en cuenta que los peligros por sí solos no representan un riesgo para los humanos o los animales. Por lo tanto, también se deben considerar los tipos de equipos utilizados y los procedimientos que se realizarán con el agente biológico (22).

De acuerdo con la "Guía de bioseguridad del laboratorio relacionada a enfermedad por coronavirus (COVID-19) (en inglés, *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019* (COVID-19)), publicada en su última versión el 13 de mayo de 2020; la OMS recomienda comenzar con una evaluación local de riesgos para cada paso del proceso, es decir, desde la recolección de muestras, la recepción de muestras, la preparación de las muestras, las pruebas y procedimientos diagnósticos (incluidas las pruebas moleculares, y hasta el cultivo del virus, en el caso que proceda), la disposición final de las muestras, etc. Luego se deben considerar ciertos peligros para cada paso del proceso, como la exposición a aerosoles, gotas y salpicaduras durante la toma, preparación y el procesamiento de muestras, fugas de muestras durante el traslado y recepción de muestras, derrame de material infeccioso durante el cultivo, etc; con un grado de riego evaluado. Para cada riesgo identificado, se deben seleccionar e implementar medidas apropiadas de control de riesgos, incluidas, entre otras, las buenas prácticas y procedimientos del laboratorio microbiológico. A fin de llevar a cabo la evaluación del riesgo de bioseguridad en el laboratorio durante el contexto COVID-19, la OMS provee un formulario que se presenta en el Anexo 2, de la guía "L*aboratory biosafety guidance related to coronavirus disease* 2019 (COVID-19"; publicada el 13 de mayo de 2020, la cual se encuentra disponible en: https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(COVID-19) (22).

Como se mencionó anteriormente, es importante destacar que incluso cuando se realiza un trabajo de bajo riesgo y el personal sigue todos los métodos básicos para la seguridad, aún pueden ocurrir incidentes. Para reducir las probabilidades de exposición/liberación de un agente biológico, o para reducir las consecuencias de tales incidentes, se debe desarrollar un plan de contingencia que proporcione procedimientos operativos específicos a seguir, que se apliquen en el ambiente local y de trabajo, en posibles escenarios de emergencia.

Todos los incidentes/accidentes ocurridos deben ser reportados oportunamente al personal pertinente, el cual debe mantener los registros adecuados de los mismos, y de su respectiva investigación oportuna, a fin de obtener datos e información valiosa que permita actualizar y mejorar continuamente los procedimientos de trabajo diagnósticos, y planes de respuesta a emergencias. La autoridad empleadora debe asumir la responsabilidad de garantizar que la salud del personal del laboratorio se verifique e informe oportuna y adecuadamente. Es posible que se requiera evaluación médica sobre el estado de salud del personal del laboratorio para garantizar que sea seguro para ellos trabajar en el laboratorio durante el contexto COVID-19 (22).

3. Derechos y deberes del personal

De acuerdo con la OMS, el personal de salud está en la primera línea de la respuesta frente al brote de COVID-19, y como tales, están expuestos a múltiples riesgos que los predisponen a la infección por el virus causante de COVID-19. Entre estos riegos se incluyen exposición a patógenos, largas horas de trabajo, angustia psicológica, fatiga, agotamiento ocupacional, estigma y violencia física y psicológica. Es por ello, que en el documento "Brote de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19): derechos, roles y responsabilidades de los trabajadores de la salud, incluyendo consideraciones claves para la seguridad y salud ocupacional" (en inglés, *Coronavirus disease (COVID-19): outbreak: rights, roles and responsibilities of health workers, including key considerations for occupational safety and health*), publicado en su última versión el 19 de marzo de 2020, se destacan los derechos, roles y responsabilidades de los trabajadores de las salud, incluidas las medidas específicas necesarias para proteger la salud y seguridad en el trabajo (29).

a. Derechos, roles y responsabilidades los trabajadores de la salud

De acuerdo con la guía "Brote de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19): derechos, roles y responsabilidades de los trabajadores de la salud, incluyendo consideraciones claves para la seguridad y salud ocupacional" (en inglés, *Coronavirus disease (COVID-19): outbreak: rights, roles and responsibilities of health workers, including key considerations for occupational safety and health*), los derechos de los trabajadores de la salud incluyen la expectativa que los empleadores y gerentes de los establecimientos de la salud: 1) Asuman la responsabilidad general de garantizar que se tomen las medidas preventivas y de protección necesarias para minimizar los riesgos de seguridad y salud en el trabajo; 2) Proporcionar información, instrucción y capacitación sobre seguridad y salud ocupacional; incluyendo: a) Capacitación de actualización sobre prevención y control de infecciones (PCI); uso, colocación, extracción y eliminación de equipos de protección personal (EPP); b) Proporcionar suministros adecuados de PCI e IPC, en cantidad suficiente para aquellos que atienden a pacientes sospechosos o confirmados de COVID-19, de modo que los trabajadores no incurran en gastos para ocupaciones de requisitos de salud y seguridad; c) Familiarizar al personal con las actualizaciones técnicas sobre COVID-19 y proporcionar herramientas apropiadas para evaluar, clasificar, evaluar y tratar a los pacientes, y compartir información de PCI con los pacientes y el público; d) Proporcionar medidas de seguridad apropiadas según sea necesario para la seguridad personas; e) Proporcionar un entorno libre de culpa en el que los trabajadores de la salud puedan informar sobre incidentes, como exposiciones a sangre o fluidos corporales del sistema respiratorio, o casos de violencia, y adoptar medidas para el seguimientos inmediato, incluido el apoyo a las víctimas; e) Asesorar a los trabajadores de salud sobre la autoevaluación, el informe de síntomas y quedarse en casa cuando se encuentren enfermos; f) Mantener horarios de trabajos con apropiados descansos; g) Consultar con los trabajadores de salud sobre aspectos de seguridad y salud en el trabajo de su trabajo, y notificar a la inspección del trabajo sobre casos de enfermedades profesionales; h) Permitir que los trabajadores de salud ejerzan el derecho de retirarse de una situación laboral cuando tienen una justificación razonable para creer que representa un peligro inminente y grave para su vida o salud, y proteger a los trabajadores de la salud que ejercen este derecho de cualquier consecuencia indebida; i) No exigir a los trabajadores de salud que regresen a una situación laboral en la que haya habido un grave peligro para la vida o la salud hasta que se hayan tomado las medidas correctivas necesarias; j) Respetar el derecho a compensaciones, rehabilitación y servicios curativos para los trabajadores de la salud infectados con COVID-19 después de la

exposición en el lugar de trabajo, considerada como una enfermedad profesional derivada de la exposición laboral; k) Proporcionar acceso a recursos de salud mental y asesoramiento; y l) Permitir la cooperación entre la gerencia y los trabajadores de salud y sus representantes (29).

b. Deberes laborales de los trabajadores de la salud

Según la guía "Brote de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19): derechos, roles y responsabilidades de los trabajadores de la salud, incluyendo consideraciones claves para la seguridad y salud ocupacional" (en inglés, *Coronavirus disease* (COVID-19): outbreak: rights, roles and responsibilities of health workers, including key considerations for occupational safety and health), los trabajadores de la salud deberían: 1) Seguir los procedimientos establecidos de seguridad y salud ocupacional; 2) Evitar exponerse a otros riesgos de seguridad y salud; 3) Participar en la capacitación brindada por el empleador sobre seguridad y salud ocupacional; 4) Utilizar los protocolos provistos para evaluar, clasificar y tratar pacientes; 5) Tratar a los pacientes con respeto, compasión y dignidad; 6) Mantener la confidencialidad del paciente; 7) Seguir rápidamente los procedimientos establecidos de notificación de salud pública de casos sospechosos y confirmados; 8) Proporcionar o reforzar información sobre PCI y salud pública, incluso a personas interesadas que no tienen síntomas ni riesgo; 9) Ponerse, usar, quitarse y desechar el EPP adecuadamente; 10) Posee autocontrol para detectar síntomas de enfermedad y autoaislamiento e informar la enfermedad a los gerentes, si ocurre; 11) Asesorar a la gerencia si experimentan signos de estrés indebido o problemas de salud mental que requieran de apoyo; e 12) Informar a su supervisor inmediato cualquier situación grave que tenga una justificación razonable para creer que presentan un peligro inminente y grave para la vida o la salud (29).

Conclusiones

A más de 6 meses de la declaración de la pandemia por COVID-19, esta revisión precisó los actuales requisitos que deben cumplir las instalaciones, los equipos y el personal del laboratorio, para la detección del SARS-CoV2 y diagnóstico de COVID-19, mediante procedimientos técnicos y de bioseguridad que permitan prevenir y controlar la infección por SARS-CoV-2 durante la atención en salud, de acuerdo a las orientaciones emanadas por la OMS. Según la OMS a fin de prevenir y controlar la infección por SARS-CoV-2 durante la atención en salud, es necesario que el personal sanitario: 1) Lleve a cabo una adecuada higiene de las vías respiratorias y de manos, y utilice el equipo de protección personal (EPP) adecuado en función de la evaluación del riesgo; 2) Lleve a cabo prácticas y procedimientos técnicos y de bioseguridad apropiados a la ejecución del trabajo realizado en la atención al paciente; y 3) Realice un manejo seguro de desechos y vele por una adecuada desinfección y esterilización del entorno y del equipo utilizado. De acuerdo con la OMS todas las prácticas y procedimientos que se realicen durante el manejo y procesamiento de muestras de pacientes sospechosos o confirmados COVID-19, deben llevase a cabo en instalaciones y por personal debidamente equipado, y con competencia técnica y de bioseguridad pertinente. El personal sanitario involucrado en los procesos propios del laboratorio, ubicado en la primera línea de la respuesta frente al brote de COVID-19 y por ende, expuesto a múltiples riesgos que lo predispone a la infección por el SARS-CoV-2; debe estar capacitado y ser completamente ético y competente para la ejecución de todos los procedimientos técnicos y de bioseguridad, los cuales deben permanecer absolutamente documentados y disponibles en el lugar de trabajo. Adicionalmente, todos los procedimientos operativos llevados a cabo por el personal del laboratorio, deben ejecutarse bajo una previa evaluación de riesgos que garantice los derechos y deberes de los trabajadores del laboratorio en relación a la protección de la salud y seguridad laboral.

Al momento de concluir este artículo, el 11 de octubre de 2020, han transcurrido 215 días (7 meses) desde que la OMS declaro a la COVID-19 como una pandemia. Para esta fecha, según la OMS, existen en el mundo 37.423.660 casos confirmados y 1.074.817 fallecimientos por COVID-19, reportados a la OMS (30).

Este artículo se escribe en memoria a las víctimas del SARS-CoV-2, y se dedica a todos los profesionales del laboratorio, responsables de la ejecución de pruebas para la detección y diagnóstico de COVID-19; imprescindibles en la lucha contra esta pandemia.

Referencias

1. WHO. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. WHO [página web en Internet]. 11 february 2020. Disponible en: www.who.int › ... › Technical guidance
2. WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation report-22. WHO [página web en Internet]. 11 january 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Coronavirus disease 2019
3. WHO. Pruebas de laboratorio para el nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV), en casos sospechosos de infección en humanos. Orientaciones provisionales. WHO [página web en Internet]. 17 enero 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: apps.who.int › iris › handle
4. PAHO/WHO. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus de COVID-19. PAHO/WHO [página web en Internet]. 30 de marzo de 2020 [Citado 03 de abril de 2020] Disponible en: www.paho.org › documentos › directrices-laboratorio-para-deteccion-...
5. WHO. Intervención del Director General de la OMS en la conferencia de prensa sobre el 2019-nCoV del 11 de febrero de 2020. WHO [página web en Internet]. 11 de febrero de 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Discursos del Director General de la OMS › details
6. WHO. Coronavirus disease 2019 COVID-19. Situation report-49. WHO [página web en Internet]. 09 march 2020 [Citado 12 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Coronavirus disease 2019
7. WHO. Alocución de apertura del Director General de la OMS en la rueda de prensa sobre la COVID-19 celebrada el 11 de marzo de 2020. WHO [página web en Internet]. 11 de marzo de 2020 [Citado 13 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Discursos del Director General de la OMS › details
8. WHO. Nuevo coronavirus-China. WHO [página web en Internet]. 12 de Enero de 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/es/
9. WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation report-1. WHO [página web en Internet]. 21 january 2020 [Citado 11 de marzo de 2020]. Disponible en: http:// www.who.int › ... › Coronavirus disease 2019.
10. Global Initiative on Sharing All Influenza Data. Countries around the globe share an increasing number of hCoV-19 genome sequences. GISAID [página web en Internet]. 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http://www.gisaid.org
11. Global Initiative on Sharing All Influenza Data. Newly discovered betacoronavirus, Wuhan 2019-2020. GISAID [página web en Internet]. 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: platform.gisaid.org/epi3/frontend#414223.
12. WHO. Virus origin / Reducing animal-human transmission of emerging pathogens. Origin of SARS-CoV-2 (26 March 2020). WHO [página web en Internet]. march, 26 [Citado 29 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › Health topics › Coronavirus
13. WHO. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. WHO [página web en Internet]. 11 february 2020 [Citado 11 de marzo de 2020]. Disponible en: www.who.int › ... › Technical guidance
14. WHO. Transmission of SARS-CoV2- implications for infection prevention precautions: Scientific brief. WHO [página web en Internet]. 09 July, 2020 [Citado 02 de octubre de 2020]. Disponible en: www.who.int › ... › Technical guidance
15. WHO. Infection prevention and control during health care when COVID-19 is suspected. WHO [página web en Internet]. 29 jun, 2020 [Citado 02 de octubre de 2020]. Disponible en: www.who.int › ... › Technical guidance
16. PAHO/WHO. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus de COVID-19. PAHO/WHO [página web en Internet]. 08 de julio de 2020 [Citado 02 de octubre de 2020] Disponible en: www.paho.org › documentos › directrices-laboratorio-para-deteccion-...
17. WHO. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance. [página web en Internet]. 19 March 2020 [Citado 25 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › laboratory-guidance
18. WHO. Testing diagnostic for SARS-CoV2. Interim guidance. [página web en Internet]. 11 September 2020 [Citado 02 de octubre de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › laboratory-guidance
19. WHO. Novel Coronavirus (2019 nCoV): Strategic Preparedness and Response Plan. WHO [página web en Internet]. 3 february, 2020 [Citado 27 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › coronaviruse › srp-04022020
20. WHO. Laboratory Testing strategy recommendations for COVID-19. WHO [página web en Internet]. 22 march 2020 [Citado 27 de marzo de 2020] Disponible en: www.who.int › ... › Technical guidance
21. PAHO/WHO. Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV). PAHO/WHO [página web en Internet]. 28 enero 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: www.paho.org › file › download
22. WHO. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19). Interim guidance. [página web en Internet]. may 13, 2020 [Citado 11 de septiembre de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › publications-detail
23. WHO. Manual de bioseguridad básico en el laboratorio. 3era edición. Ginebra: WHO; 2005.Disponible en:http://www.who.int › topics › medical_waste › manual_biosegu...

24. WHO. Pruebas de laboratorio para el nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV), en casos sospechosos de infección en humanos. Orientaciones provisionales. WHO [página web en Internet]. 17 enero 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: apps.who.int › iris › handle
25. PAHO/WHO. Requerimientos para uso de equipos de protección personal (EPP) para el nuevo coronavirus (2019-nCoV) en establecimientos de salud. Recomendaciones interinas. PHAO [página web en Internet]. 06 febrero 2020 [Citado 03 de abril de 2020] Disponible en: http://www.paho.org › documentos › requerimientos-para-us...
26. WHO. Advice on the use of masks in the community, during home care and in health care settings in the context of the novel coronavirus (2019-nCoV) outbreak. Interim guidance. WHO [página web en Internet]. 8 february 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › Publications detail
27. WHO. Advice on the use of masks in the context of COVID-19. WHO [Internet] jun 05, 2020 [Citado 11 de septiembre de 2020] Disponible en: www.who.int › Publications detail
28. WHO. Cleaning and disinfection of environmental surfaces in the context of COVID-19. WHO [página web en Internet]. 15 may, 2020 [Citado 11 de septiembre de 2020] Disponible en: www.who.int › Publications detail
29. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak: rights, roles and responsibilities of health workers, including key considerations for occupational safety and health. WHO. [página web en Internet]. 19 March 2020 [Citado 25 de marzo de 2020] Disponible en: http://www.who.int › laboratory-guidance
30. WHO. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. WHO [página web en Internet]. 11 october 2020 [Citado 11 de octubre de 2020] Disponible en: https://www.who.int/redirect-pages/page/novel-coronavirus-(covid-19)-situation-dashboard.

DETECCIÓN DEL SARS-CoV-2 Y DIAGNÓSTICO DE COVID-19: A MÁS DE 6 MESES DE LA DECLARACIÓN DE LA PANDEMIA

Celsy Hernández,[1] María Fátima Garcés,[2] Elizabeth Hernández.[3]

[1]Licenciado en Bioanálisis, Magíster en Sistemas de la Calidad. Profesor Agregado a Dedicación Exclusiva, Jefe de Cátedra de Bioquímica "B" y del Departamento de Bioquímica de la Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela. [2] Licenciado en Bioanálisis, Doctor en Bioquímica. Profesor Titular a Dedicación Exclusiva de la Cátedra de Bioquímica "A", Coordinadora del Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis. Director de la Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela. [3] Médico Cirujano. Especialista en Anestesiología y Medicina Crítica. Adjunto del Servicio de Anestesiología del Hospital "Dr. Domingo Guzmán Lander".

Recibido para publicación 24 Noviembre 2020. Aceptado 12 Diciembre 2020.

RESUMEN:
La publicación de la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 el 10 de enero de 2020, permitió no solo investigar el origen y estudiar la evolución y propagación del virus, sino también sirvió de base para el desarrollo de pruebas específicas para la detección del agente infeccioso y el diagnóstico de COVID-19. Esta revisión pretende precisar las orientaciones emanadas de la OMS en relación a las pruebas de laboratorio para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19, al cumplirse más de 6 meses luego de la declaración de pandemia por COVID-19, el 11 de marzo de 2020. De acuerdo con la OMS, hoy en día, las pruebas de diagnóstico de COVID-19 implican la detección del virus en sí (ARN viral o antígenos virales) o la detección de la respuesta inmune humana a la infección (anticuerpos u otros biomarcadores). Sin embargo, la confirmación estándar de infecciones por SARS-CoV-2 se basa en la detección de secuencias virales únicas por pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAATs), como la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa en tiempo real (rRT-PCR).

Palabras clave: Pandemia, COVID-19, SARS-CoV-2, Coronavirus, Laboratorio clínico, rRT-PCR, pruebas rápidas, antígenos, anticuerpos, OMS.

SARS-CoV-2 DETECTION AND COVID-19 DIAGNOSIS: MORE THAN 6 MONTHS AFTER THE DECLARATION OF THE PANDEMIC

SUMMARY
The publication of the SARS-CoV-2 genome sequencing on January 10, 2020, not only made it possible to investigate the origin and study the evolution and spread of the virus, but also served as the basis for the development of specific tests for the detection of the infectious agent and the diagnosis of COVID-19. This review aims to clarify the guidelines issued by the WHO in relation to laboratory tests for the detection of SARS-CoV2 and diagnosis of COVID-19, more than 6 months after the declaration of a COVID-19 pandemic, on the 11 March 2020. According to the WHO, today, diagnostic tests for COVID-19 involve the detection of the virus itself (viral RNA or viral antigens) or the detection of the human immune response to infection (antibodies or other biomarkers). However, standard confirmation of SARS-CoV-2 infections relies on the detection of unique viral sequences by nucleic acid amplification tests (NAAT), such as the real-time reverse transcription polymerase chain reaction (rRT-PCR).

Keywords: Pandemic COVID-19, SARS-CoV-2, Coronavirus, Clinical Laboratory, rRT-PCR, rapid tests, antigens, antibodies, WHO.

Introducción

El 31 de diciembre de 2019, un grupo de casos de neumonía de etiología desconocida, detectados en el municipio de Wuhan en la provincia de Hubei, China; entre el 8 y 30 de diciembre 2019; fueron notificados a la Oficina de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en China. En estos pacientes con neumonía, otros patógenos respiratorios como los virus de gripe Aviar, Adenovirus, el Coronavirus causante del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS-CoV) (del inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus*) y el Coronavirus del Síndrome Respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) (del inglés, *Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus*), fueron descartados.

Solicitar copia a: MSc. Celsy Hernández (celsyhernandez@gmail.com)

El 7 de enero de 2020, el Centro Chino para el Control y la Prevención de Enfermedades identifica el virus de la neumonía de Wuhan, como de la familia *Coronaviridae,* al que la OMS denominó provisionalmente como "nuevo Coronavirus del 2019", 2019-nCoV (del inglés, 2019 *novel Coronavirus*) (1,2).

El 10 de enero de 2020, investigadores del Centro Clínico de Salud Pública y la Escuela de Salud Pública de la Universidad de Fudan, Shanghái, China; publican los datos de secuenciación genética del 2019-nCoV, obtenidos mediante la aplicación de técnicas de secuenciación de nueva generación (en inglés, *Next Generation Sequencing, NGS*) de virus, en muestras recibidas de pacientes con neumonía, y confirman que el virus de la neumonía de Wuhan, es un nuevo virus de la familia *Coronaviridae*, género betacoronavirus, subgénero *Sarbecovirus* (3,4).

La familia *Coronaviridae* comprende a un grupo altamente diverso de virus ARN monocatenario, los cuales se dividen en 4 géneros (alfa, beta, gamma y delta), que causan enfermedades de leves a graves en humanos y animales. Existen coronavirus humanos endémicos como los alfacoronavirus 229E (HCoV-229E) y NL63 (HCoV-NL63), y los betacoronavirus OC43 (HCoV-OC43) y HKU1 (HCoV-HKU1), que pueden causar enfermedades de tipo influenza o neumonía en humanos. Adicionalmente, existen otros dos coronavirus zoonóticos endémicos, que causan enfermedades graves en humanos; el Coronavirus causante del Síndrome Respiratorio de Medio Oriente (MERS-CoV), (del inglés, *Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus*), surgido en 2012 en Arabia Saudí, y el Coronavirus causante del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS-CoV) (del inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus*), surgido en Catón, China en 2002-2003 (3,4).

Según la secuencia del genoma y las imágenes obtenidas por microscopia electrónica, el 2019-nCoV muestra una estructura constituida por un RNA monocatenario positivo en la nucleocápside (N) y una envoltura (E), en la cual se encuentra una proteína de membrana (M) y una glucoproteína S (S), que forma unas espículas o espigas, que dan a la estructura infectiva, un aspecto similar al de una corona solar (3,4). Otras tres secuencias del gen realizadas por el Centro Chino para el Control y la Prevención de Enfermedades Virales, la Academia China de Ciencias Médicas, y el Instituto de Virología del Hospital Jinyintan en Wuhan; se publican en el portal de la Iniciativa Global para Compartir Todos los Datos de la Influenza (GISAID) (del inglés, *Global Initiative on Sharing All Influenza Data*) (5,6). Para ese entonces, disponer de la secuenciación del genoma, permitió no solo investigar el origen y estudiar la evolución y propagación del virus, sino también sirvió de base para el desarrollo de pruebas de laboratorio específicas para la detección del agente infeccioso y alternativas terapéuticas curativas y preventivas específicas contra el virus emergente (3).

El análisis evolutivo del virus demuestra que el 2019-nCoV, está emparentado con virus cuyo hospedador primario son algunas especies de murciélagos del género *Rhinolophus*, por lo que se postula que los murciélagos, son también el reservorio original. Sin embargo, tanto el SARS-CoV como el MERS-CoV, dos coronavirus zoonóticos que causan enfermedades graves en humanos y generaron brotes con anterioridad, saltaron a la especie humana a través de especies intermediarias, civetas (*Paradoxurus hermaphroditus*) y camellos (*Camelus dromedarius*), respectivamente; lo que hace sospechar que lo mismo ha sucedido en el origen 2019-nCoV; sin embargo, no se ha logrado identificar el hospedador intermediario hasta los momentos, y se piensa podría ser un animal doméstico, un animal salvaje o un animal salvaje domesticado. El análisis de las secuencias del genoma del virus 2019-nCoV publicadas, indica que está muy bien adaptado a los receptores de células humanas, específicamente en la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA 2), lo que le permite invadir células humanas e infectar fácilmente a la especie. Se sospecha que el virus podría haberse introducido a la especie humana a partir de un animal intermediario en el mercado de Wuhan, o un humano infectado podría haber introducido el virus en el mercado, el cual se amplificó en ese entorno (7,8).

El 11 de febrero de 2020, la OMS de acuerdo con las Mejores Prácticas de la OMS para el Nombramiento de Nuevas Enfermedades Infecciosas Humanas (en inglés, *WHO Best Practices for Naming of New Human Infectious Diseases*), y la Clasificación Internacional de enfermedades (ICD) (del inglés, *International Classification of Diseases*), nombra esta nueva enfermedad como "Enfermedad por Coronavirus 2019" abreviado como COVID-19 (del inglés, *Coronavirus disease* 2019) (9). Mientras tanto, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (en inglés, *International Committee of Taxonomy of Viruses, ICTV*), encargado de asignar nombres a los nuevos virus, le dio al nuevo coronavirus (identificado por primera vez en Wuhan, China), el nombre de Coronavirus 2

del Síndrome Respiratorio Agudo Grave, cuya versión acortada es SARS-CoV-2 (del inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2*). Como lo indica su nombre, el virus está relacionado con el coronavirus asociado al SARS (SARS-CoV), que causó un brote de Síndrome Respiratorio Agudo Grave, que inició en la provincia de Cantón, China, en noviembre de 2002; sin embargo, no es el mismo virus (10,11).

El 11 de marzo de 2020, la OMS declara a la COVID-19 como una pandemia (12,13).

Esta revisión pretende precisar las orientaciones emanadas de la OMS en relación a las pruebas de laboratorio para la detección del SARS-CoV2 y diagnóstico de COVID-19, al cumplirse más de 6 meses luego de la declaración de pandemia por COVID-19, el 11 de marzo de 2020.

Desarrollo

El 10 de enero de 2020, la OMS publicó de una serie de orientaciones técnicas para todos los países, en relación a cómo podían prepararse y responder frente a los casos de infección con 2019-nCoV (ahora SARS-CoV-2). Según la OMS, estas orientaciones se desarrollaron a partir de los materiales existentes para MERS-CoV; actualizados con la participación de un grupo de países miembros afectados, así como una red de socios globales con experiencia en la gestión clínica, prevención y control de infecciones, laboratorio clínico, modelación matemática, comunicación de riesgo y participación comunitaria (14). Entre este paquete de orientaciones técnicas, que la OMS consideró revisar y actualizar periódicamente con la información nueva disponible, se incluyó la guía: "Vigilancia de casos definidos para infección humana con 2019-nCoV" (en inglés, *Surveillance case definitions for human infection with 2019 nCoV*), en la cual se definen los "casos", que deben ser investigados por el laboratorio para infección por 2019-nCoV (ahora SARS-CoV-2) (15).

A la fecha de hoy, esta publicación ha sufrido varias actualizaciones, la última de ellas el 07 de agosto de 2020. En su última versión, esta guía ahora llamada "Vigilancia de Salud Pública para COVID-19" (en inglés, *Public healtg surveillance for COVID-19*), del 07 de agosto de 2020, resume la orientación actual de la OMS en relación a la implementación de la vigilancia de COVID-19 en los países miembros así como los requisitos para la notificación de casos a la OMS (16).

De acuerdo con esta orientación, entre las definiciones para "caso" de vigilancia se incluyen:

Caso sospechoso de COVID-19:

A. Una persona que cumpla con los criterios clínicos y epidemiológicos:

Criterios clínicos:

1. Inicio agudo de fiebre Y tos;

O

2. Inicio agudo de cualquiera de tres o más de los siguientes signos o síntomas: fiebre, tos, síntomas de debilidad / fatiga, dolor de cabeza, mialgia, dolor de garganta, coriza, disnea, anorexia / náuseas / vómitos, diarrea, alteración estado mental.

Y

Criterios epidemiológicos:

1. Residir o trabajar en un área con alto riesgo de transmisión del virus: por ejemplo, entornos residenciales cerrados y entornos humanitarios, como campamentos y entornos similares a campamentos para personas desplazadas, en cualquier momento dentro de los 14 días antes del inicio de los síntomas;

O

2. Residir o viajar a un área con transmisión comunitaria en cualquier momento dentro de los 14 días anteriores al inicio de los síntomas;

O

3. Trabajar en un entorno de salud, incluso dentro de los establecimientos de salud y dentro de los hogares, en cualquier momento dentro de los 14 días anteriores al inicio de los síntomas.

B. Un paciente con enfermedad respiratoria aguda grave (IRAG: infección respiratoria aguda con antecedentes de fiebre o fiebre medida ≥ 38 C °; y tos; con inicio dentro de los últimos 10 días; y que requiere hospitalización).

Caso probable de COVID-19:

A. Un paciente que cumple con los criterios clínicos anteriores, y es un contacto de un caso probable o confirmado, o vinculado epidemiológicamente a un grupo de casos que ha tenido al menos un caso confirmado identificado dentro de ese grupo.

B. Un caso sospechoso (descrito anteriormente) con imágenes de tórax que muestran hallazgos sugestivos

de enfermedad COVID-19. Los hallazgos típicos de imágenes de tórax que sugieren COVID-19 incluyen los siguientes: 1) Radiografía de tórax: opacidades nebulosas, a menudo redondeadas en morfología, con distribución pulmonar periférica e inferior; 2) TC de tórax: múltiples opacidades bilaterales en vidrio esmerilado, a menudo redondeadas en morfología, con pulmón periférico e inferior distribución; 3) Ecografía pulmonar: líneas pleurales engrosadas, líneas B (multifocales, discretas o confluentes), patrones de consolidación con o sin broncogramas aéreos.

C. Una persona con inicio reciente de anosmia (pérdida del olfato) o ageusia (pérdida del gusto) en ausencia de cualquier otra causa identificada.

D. Muerte, no explicada de otra manera, en un adulto con dificultad respiratoria anterior a la muerte y que fue un contacto de un probable o caso confirmado o epidemiológicamente vinculado a un grupo que ha tenido al menos un caso confirmado identificado dentro de ese grupo.

Caso COVID-19 confirmado:

Una persona con confirmación de laboratorio de infección por COVID-19, independientemente de los signos y síntomas clínicos.

Contacto:

Un contacto es una persona que ha experimentado cualquiera de las siguientes exposiciones durante los 2 días anteriores y los 14 días posteriores al inicio de los síntomas de un caso probable o confirmado: 1) contacto cara a cara con un caso probable o confirmado dentro de 1 metro y durante al menos 15 minutos; 2) contacto físico directo con un caso probable o confirmado; 3) atención directa a un paciente con enfermedad COVID-19 probable o confirmada sin utilizar el equipo de protección personal recomendado; o 4) Otras situaciones indicadas por las evaluaciones de riesgos locales (16).

Según la OMS, esta guía "Vigilancia de Salud Pública para COVID-19" (en inglés, *Public healtg surveillance for COVID-19*), del 07 de agosto de 2020, debe revisarse conjuntamente con la guía "Preparativos críticos y acciones de preparación y respuesta para COVID-19" (en inglés, *Critical preparedness, readiness and response actions for COVID-19*), la cual en su última actualización realizada el 24 de junio de 2020, describe los preparativos críticos, y las acciones de preparación y respuesta para cada uno de los escenarios de transmisión para COVID-19 definidos por la OMS, los cuales incluyen:

1) Sin casos: países / territorios/áreas sin casos;
2) Casos esporádicos: países/territorios/áreas con uno o más casos, importados o detectados localmente;
3) Grupos de casos: países/territorios/áreas que experimentan casos, agrupados en tiempo, ubicación geográfica y / o exposición común; y
4) Transmisión comunitaria: países/territorios / áreas que experimentan brotes más grandes de transmisión local, definida mediante una evaluación de factores que incluyen, entre otros: a) Gran número de casos no vinculables a cadenas de transmisión; b) Gran número de casos de vigilancia de laboratorio centinela o aumento de pruebas positivas a través de muestras centinela (análisis sistemático de rutina de muestras respiratorias de laboratorios establecidos); c) Múltiples grupos de casos no relacionados en varias áreas del país/territorio/área (17).

De acuerdo con esta orientación sobre "Preparativos críticos y acciones de preparación y respuesta para COVID-19", es requerido someter a pruebas moleculares para la detección del virus causante de COVID-19, a todos los pacientes que califiquen para la definición de "Caso sospechoso", en cualquiera de los escenarios de transmisión (17). Adicionalmente, en la guía "Consideraciones en la investigación de casos y grupos de COVID-19" (en inglés, *Considerations in the investigations of cases and clusters of COVID-19*), también publicada en su última versión el 02 de abril de 2020 por la OMS; se indica que: "…es necesario realizar pruebas moleculares para la detección del virus causante de COVID-19; a los "Contactos" si experimentan síntomas; y a las personas en "Cuarentena" independientemente si desarrollan síntomas, así como a los "Casos confirmados", a final de la cuarentena y/o a partir del día 14 luego del inicio de los síntomas. Para los casos confirmados por laboratorio, 2 muestras negativas con al menos 1 día de diferencia, tomadas a partir del día 14 luego de iniciados los síntomas, indican recuperación de la infección" (18). Sin embargo, según la guía "Preparativos críticos y acciones de preparación y respuesta al COVID-19": "… cuando en el país, la capacidad de diagnóstico a través de pruebas moleculares de laboratorio es insuficiente, la OMS recomienda realizar la detección molecular sólo a los "Casos sospechosos", en cualquiera de los escenarios de transmisión" (17). En consonancia con esto, la guía "Recomendaciones estratégicas para las

pruebas de laboratorio para COVID-19" (en inglés, *Laboratory Testing strategy recommendations for COVID-19*); publicada el 21 de marzo de 2020, indica lo siguiente: "…dependiendo del escenario y la intensidad de transmisión, del número de casos y las pruebas de laboratorio disponibles, así como de la capacidad de atención y servicio, puede ser necesaria la priorización de la indicación y ejecución de las pruebas moleculares de laboratorio para COVID-19" (19).

Según la OMS, el aumento dramático del número de casos sospechosos y el incremento del área geográfica donde se requiere la implementación de pruebas moleculares para la detección del virus de COVID-19, ha llevado a una escasez mundial de los reactivos para la ejecución de estas pruebas. Sin embargo, más allá de los problemas de inventario y suministro, existen importantes limitaciones en la capacidad de absorción de la demanda en una gran cantidad de regiones, principalmente en países de bajos y medianos ingresos. Como parte del "Plan estratégico de preparación y respuesta frente al COVID-19" (en inglés, COVID-19 *Strategic Preparedness and Response Plan*); publicado el 03 de febrero de 2020, la OMS desarrolló recomendaciones estratégicas para las pruebas de laboratorio, las cuales incluyen: 1) Todos los países deben aumentar y optimizar su nivel de respuesta para identificar, gestionar y atender nuevos casos de COVID-19; donde las pruebas de laboratorio son una parte integral de esta estrategia; 2) Los países deben prepararse y responder a diferentes escenarios de salud pública (sin casos, casos esporádicos, agrupaciones de casos o transmisión comunitaria), entendiendo que se pueden experimentar uno o más de estos escenarios a nivel nacional; que deben ajustar y adaptar su enfoque al contexto local y prepararse para posibles fases posteriores; reconociendo que no existe un enfoque único para la gestión de casos y brotes de COVID-19; y 3) Cada país debe evaluar su riesgo y rápidamente implementar medidas necesarias en el momento apropiado para incrementar la capacidad de atención médica y de realización de pruebas, a fin de reducir la transmisión del COVID-19 y el impacto en la salud pública, en lo económico y social (20).

Las buenas prácticas del laboratorio que producen resultados veraces y precisos, benefician y son claves para la respuesta de la salud pública frente a la pandemia por COVID-19. Sin embargo, la disponibilidad de resultados veraces, precisos y oportunos puede verse amenazada cuando la necesidad de pruebas exige una capacidad superior a la disponible, como por ejemplo cuando: 1) Existe acumulación de pruebas y ya no es posible reportar resultados dentro de las 24 a 48 horas luego de tomadas las muestras; 2) La demanda de reactivos del laboratorio es superior a la capacidad de suministro; 3) El personal del laboratorio está agotado y requiere de la reducción de horas laborales; 4) El número de muestras entrantes excede la capacidad de almacenamiento seguro previo a la prueba; 5) El personal crítico se infecta y enferma o por otra razón es incapaz de realizar sus laborares (por ejemplo, que se encuentre en cuarentena); 6) Los equipos e instrumentos de laboratorio no pueden ser reparados o mantenidos adecuadamente". En estas situaciones, la OMS recomienda de acuerdo a los cuatro escenarios de transmisión:

1) Sin casos: realizar pruebas moleculares a todos los "Casos sospechosos". Es importante enfatizar que el hecho de no tener casos confirmados por laboratorio no implica que un país esté libre de COVID-19; por el contrario, puede ser un signo de insuficiente vigilancia y realización de pruebas. Por ello, la OMS alienta a todos los países a evaluar críticamente las estrategias de vigilancia y la realización de pruebas. Una evaluación de las posibles áreas y poblaciones de riesgo (por ejemplo, relacionadas con viajes a países de alto riesgo), puede requerir una estrategia más intensa de realización de pruebas. Los médicos también pueden estar alerta y solicitar pruebas moleculares a pacientes con presentación clínica inesperada o cuando haya un incremento en los ingresos hospitalarios en un grupo demográfico específico;

2) Con casos esporádicos: realizar pruebas moleculares a todos los "Casos sospechosos". Se recomienda que la detección del primer caso confirmado sea verificado por un laboratorio de referencia de la OMS, para la detección molecular del virus causante de COVID-19 (19). De acuerdo con la OMS, en la Región de las Américas, los dos laboratorios de Referencia disponibles son, el Laboratorio de Diagnóstico de Virus Respiratorios del Centro para el Control y prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América (ubicado en Atlanta, EE. UU); y el Laboratorio de Virus Respiratorios y Sarampión de la de la Fundación Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) de Brasil (ubicado en Río de Janeiro, Brasil) (4). Adicionalmente, cada caso esporádico confirmado requiere de la búsqueda activa de casos

de contacto y la implementación de aislamientos y cuidados médicos cuando sea necesario;

3) Grupos de casos: realizar pruebas moleculares a todos los "Casos sospechosos". En presencia de grupos de casos debe intensificarse la vigilancia y la investigación de casos y grupos, al mismo tiempo que deben adoptarse planes para mejorar la capacidad de pruebas a nivel nacional, anticipando las posibles restricciones de pruebas que sean necesarias, y considerando su priorización, a fin de asegurar el mayor impacto de la salud pública, al reducir la transmisión de la infección utilizando eficientemente los recursos disponibles; y

4) Transmisión comunitaria: en los países que experimentan brotes con transmisión local, y donde la capacidad de la realización de pruebas no puede satisfacer las necesidades; la indicación y ejecución de pruebas debe racionalizarse (19), dando prioridad a la confirmación y protección a los siguientes pacientes: 1) Personas que corren el riesgo de desarrollar enfermedades graves y poblaciones vulnerables, que requerirán hospitalización y atención avanzada para COVID-19; 2) Trabajadores de salud (incluidos servicios de emergencia y personal no clínico), independientemente de si son un contacto de un caso confirmado (para proteger a los trabajadores de salud y reducir el riesgo de transmisión nosocomial); 3) Los primeros individuos sintomáticos en un entorno cerrado (por ejemplo, escuelas, cárceles, hospitales, etc.) o entornos frágiles (por ejemplo operaciones humanitarias, campamentos de refugiados/ migrantes y entornos fuera de campamentos), para identificar rápidamente brotes y garantizar medidas de contención. Todos los demás individuos con síntomas relacionados que no se encuentren dentro de estas tres categorías, pueden considerarse como "Casos probables", y deben ser aislados para reducir la propagación de la infección, sin la realización de pruebas adicionales, cuando la capacidad de prueba es limitada en el país (18,19).

Pruebas moleculares

De acuerdo con la guía "Pruebas de laboratorio para el nuevo Coronavirus de 2019 (2019-nCoV), en casos sospechosos de infección en humanos"; publicada por la OMS el 17 de enero de 2020; la confirmación de los casos COVID-19 debe realizarse en el laboratorio a través de métodos moleculares, específicamente mediante detección de secuencias únicas del ARN viral por Técnicas de Amplificación de Ácidos Nucleicos (en inglés, *Nucleic Acid Amplification Techniques, NAAT*), como la Reacción en Cadena de la Polimerasa de Transcripción Reversa en Tiempo Real (en inglés, *Real Time-Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, rRT-PCR*) (3).

En el mercado existe diversos ensayos para el diagnóstico molecular de COVID-19, mediante técnica de amplificación de ácidos nucleicos; los cuales en su mayoría emplean rRT-PCR (para detectar genes específicos del SARS-CoV-2 y/o compartidos por otros coronavirus causantes de SARS; como los genes Orf1b, Orf1ab, E, N, S y RdRP); y que han sido sugeridos para su uso, más no validados por la OMS hasta los momentos. Entre estos protocolos se encuentran el del Instituto de Virología Charité de la Universidad de Berlín, Alemania, del 17 de enero de 2020 (en inglés, *Charité Institute of Virology of the University of Berlin, Germany*); de la Facultad de Medicina de la Universidad de Hong Kong, China del 23 de enero de 2020 (en inglés, *Hong Kong University Faculty of Medicine*); los del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades Infecciosasde China del 24 de enero de 2020 (en inglés, *Chinese of Center for Disease Control*

Tabla 1. Resumen de los protocolos disponibles para la detección molecular de COVID-19, sugeridos por la OMS al inicio del brote infeccioso.

Institutos	Tarjeta de genes
CDC, China	ORF1ab and N
Pasteur, Francia	2 tarjetas en RdRP
CDC, USA	3 tarjetas en gen N
NIID, Japón	Pancorona and multiple tarjetas, proteína espiga
Charité, Alemania	RdRP, E, N
HKU, Hong Kong, China	ORF1b-nsp14, N
NIH, Tailandia	N

Fuente: WHO. Molecular assays to diagnose COVID-19. In-house developed molecular assays. WHO [Internet] 02 march 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance

and Prevention); del Departamento de Virología III del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas de Japón, del 24 de enero de 2020 (en inglés, *Virology Department III, National Institute of Infectious Diseases of Japan*); del Departamento de Ciencias Médicas del Instituto Nacional de Salud de Tailandia, del 28 de enero de 2020 (en inglés, *Department of Medical Sciences of the National Institute of Health of Thailand*); Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América, del 28 de enero de 2020 (en inglés, *US of Center for Disease Control and Prevention*) e Instituto Pasteur de Francia, del 02 de marzo de 2020 (en inglés, *Institut Pasteur of France*) (4, 21).

Todos los protocolos de trabajo de estas pruebas moleculares sugeridos por la OMS para la confirmación de casos COVID-19, se pueden encontrar en la página de la OMS, en el espacio referido a "Ensayos Moleculares para diagnóstico COVID-19" (en inglés, Molecular assays to diagnose COVID-19), ubicado en el apartado de Países y Guías Técnicas-Enfermedad Coronavirus (COVID-19): Laboratorios Nacionales (en inglés, *Country & Technical Guidance - Coronavirus disease* (COVID-19): *National Laboratories*); disponibles en: https://www.who.int/docs/defaultsource/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf?sfvrsn=de3a76aa_2 (21).

Al inicio del brote, entre el 17 y 31 de enero de 2020, gracias al esfuerzo de los Estados Miembros de la OMS, los laboratorios nacionales con capacidad para realizar pruebas moleculares, incluido el Centro Nacional de Influenza (en inglés, *National Influenza Center*), de al menos 120 países (incluyendo al Instituto de Higiene "Rafael Rangel" de Caracas, Venezuela), empezaron a recibir el protocolo de trabajo, capacitación y dotación de reactivos específicos (cebadores, sondas y controles positivos); para el uso e implementación del primer protocolo puesto a disposición por la OMS, publicado el 17 de enero de 2020, por el Instituto de Virología Charité de la Universidad de Berlín, Alemania (4,22). El protocolo se basa en la detección de dos marcadores en el genoma del virus; el gen E (compartido por todos los *betacoronavirus*), utilizado como tamizaje, seguido de la confirmación de los positivos al gen E a través de la detección del gen RdRP (específico del SARS-CoV-2), utilizando las sondas P1 y/o P2. El ensayo E es específico para todos los virus relacionados con el SARS-CoV, mientras que el ensayo RdRP con la sonda P2 solo detecta el virus COVID-19 (4). Este ensayo fue evaluado, pero aún no ha sido validado por la OMS. Adicionalmente a estos métodos sugeridos por la OMS, otros ensayos moleculares están disponibles y se pueden realizar en plataformas o sistemas abiertos ("manuales") o cerrados; los cuales han sido aprobados por autoridades reguladoras nacionales, y en particular aquellas consideradas por la OMS como "Autoridad Reguladora Estricta" (en inglés, *Stringent Regulatory Authority*), para su precalificación acelerada como pruebas de diagnóstico in vitro para COVID-19 (4). Los protocolos de algunas de estas pruebas se pueden encontrar en la página de la OMS, en el espacio referido a "Ensayos Moleculares para diagnóstico COVID-19" (en inglés, *Molecular assays to diagnose COVID-19*), ubicado en el apartado de Países y Guías Técnicas-Enfermedad Coronavirus (COVID-19): Laboratorios Nacionales (en inglés, *Country & Technical Guidance - Coronavirus disease (COVID-19): National Laboratories*); disponible en:https://www.finddx.org/COVID-19/pipeline/ (23).

Así mismo, el 28 de enero de 2020, la OMS invitó a los fabricantes de pruebas de diagnóstico in vitro, para la detección de ácidos nucleicos del SARS-CoV-2, a presentar sus solicitudes a fin de someter sus productos a revisión por parte de la OMS; a través de un mecanismo de evaluación de emergencia, a fin de ser incluidos en la Lista de Uso de Emergencia (en inglés, *Emergency Use Listing*), de la OMS; y así, acelerar la disponibilidad de pruebas diagnósticas necesarias en esta situación de emergencia de salud pública. El objetivo de esto es ayudar a las agencias de compras, y a los países, a manejarse con respecto a la gran cantidad de dispositivos diferentes disponibles en el mercado, que al ser evaluados y enlistado por la OMS, se facilita y garantiza la escogencia de pruebas con elevada calidad y alto rendimiento (24).

El 03 y 07 de abril de 2020 respectivamente, la OMS enlistó las dos primeras pruebas de diagnóstico para uso de emergencia durante la pandemia de COVID-19. Se considera que esta medida incrementa el acceso a pruebas con niveles de veracidad y precisión óptimas y garantizadas para el diagnóstico de la enfermedad; y significa que ahora estas dos pruebas pueden ser suministradas por las Naciones Unidas y otras agencias de adquisiciones que apoyan la respuesta frente al COVID-19. Estas pruebas de diagnóstico in vitro son la prueba "*Cobas SARS-CoV-2 Qualitative assay*", para su uso en los sistemas Cobas® 6800/8800 de Roche (Estados Unidos de América), el cual es un ensayo cualitativo para sistema cerrado en laboratorios con capacidad de pruebas amplia, y la prueba "*Genesig Real-Time PCR*

Coronavirus (COVID-19)" de *Primer design* (Reino Unido), la cual es una prueba para sistema abierto, adecuada para laboratorios con capacidad de pruebas moderada (25,26).

Hasta la fecha, la OMS ha incluido en la Lista de Uso de Emergencia, 20 pruebas para el diagnóstico molecular del SARS-CoV-2, mediante rTR-PCR (Tabla 2) (27).

De acuerdo con la guía "Pruebas de laboratorio para enfermedad de coronavirus (COVID-19), en casos sospechosos humanos" (en inglés, *Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases*); publicada el 19 de marzo de 2020, la confirmación de casos COVID-19 mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos en áreas sin

Tabla 2. Pruebas moleculares para la detección del SARS-COV-2 incluidas en la Lista de Uso de Emergencia de la OMS (actualizada por la OMS por última vez el 02 de Octubre de 2020.

Fecha de listado	Nombre del producto	Manufacturador
03/04/2020	*Cobas SARS-CoV-2 Qualitative assay for use on the cobas 6800/8800 Systems*	Roche Molecular Systems, Inc.
07/04/2020	*Primerdesign Ltd COVID-19 genesig Real-Time PCR assay*	Primerdesign Ltd
09/04/2020	*Abbott Realtime SARS-CoV-2*	Abbott Molecular Inc
24/04/2020	*PerkinElmer SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay*	PerkinElmer Inc.
07/05/2020	*Real-time fluorescent RT-PCR kit for detecting 2019-nCoV*	BGI Europe A/S
14/05/2020	*Detection Kit for 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) RNA (PCRFluorescence Probing)*	Da An Gene Co., Ltd. Of Sun Yat-sen University
19/05/2020	*Multiple Real-Time PCR Kit for Detection of 2019-nCoV*	Beijing Applied Biological Technologies Co. Ltd.
21/05/2020	*FTD SARS-CoV-2 (FTD-114-32)*	Fast Track Diagnostics Luxembourg S.à r.l
22/05/2020	*Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Real Time Multiplex RT-PCR Kit*	Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Ltd
08/06/2020	*Diagnostic kit for SARS-CoV-2 Nucleic acid (Real-time PCR)*	Shanghai Kehua Bio-engineering Co., Ltd.
11/06/2020	*Novel Coronavirus 2019-nCoV Nucleic Acid Detection Kit (Real Time PCR)*	Shanghai GeneoDx Biotechnology Co., Ltd.
15/06/2020	*COVID-19 Real-Time PCR Kit*	Chaozhaou Hybribio Biochemistry Ltd.
23/06/2020	*Xpert Xpress SARS-CoV-2*	Cepheid AB
06/07/2020	*Simplexa COVID-19 Direct and Simplexa COVID-19 Positive control Pack*	DiaSorin
09/07/2020	*COVID-19 Coronavirus Real Time PCR Kit*	Jiangsu Bioperfectus Technologies Co.,Ltd
14/08/2020	*Wantai SARS-CoV-2 RT-PCR*	Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co.
14/08/2020	*TaqPath COVID 19 CE IVD RT PCR Kit*	Thermo Fisher Scientific;
28/08/2020	*SARS-CoV-2 Virus Detection Diagnostic Kit (RT-qPCR Method)*	Ningbo Health Gene Technologies Co., Ltd.
02/09/2020	*Novel Coronavirus (2019-nCoV) RT-PCR Detection Kit*	Shanghai Fosun Long March Medical Science Co., Ltd.
15/09/2020	*SARS-CoV-2 Nucleic acid detection kit based on Real-Time PCR platform*	Tellgen Corporation

Fuente: WHO Emergency Use Listing for In vitro diagnostics (IVDs) Detecting SARS-CoV-2. WHO [Internet] 02 october 2020 [Citado 12 de octubre de 2020] Disponible en: https:// www.who.int/diagnostics_laboratory/ 201002_ eul_sars_cov2_product_list.pdf?ua=1

circulación conocida del virus de COVID-19, debe cumplir con las siguientes condiciones:

1) Es requerido un resultado positivo para al menos dos diferentes objetivos genómicos, de los cuales como mínimo uno de los objetivos es específico para el SARS-CoV-2 causante del COVID-19. Como en los actuales momentos ningún otro coronavirus similar al SARS circulan en el población humana se puede debatir si debe ser específico de SARS-CoV-2 o similar al SARS;
2) Es válido un resultado positivo para la presencia de betacoronavirus, más la identificación del virus de la COVID-19 por secuenciación parcial o total del genoma, siempre que el objetivo de la secuencia sea mayor o diferente del amplicón sondeado en el ensayo de técnica de amplificación de ácido nucleico utilizado;
3) Cuando hay resultados discordantes, el paciente debe ser remuestreado, y si corresponde, debe obtenerse una secuenciación del virus del espécimen original o de un amplicón generado a partir de un ensayo de técnica de amplificación de ácido nucleico apropiado, diferente del ensayo inicialmente utilizado, para proporcionar un resultado confiable; y
4) Se insta a los laboratorios a buscar la confirmación de cualquier resultados inesperado en un laboratorio de referencia internacional de la OMS (28).

Asímismo, de acuerdo con la guía "Pruebas de laboratorio para enfermedad de coronavirus (COVID-19), en casos sospechosos humanos" (en inglés, *Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19*) in suspected human cases); la confirmación de casos COVID-19 mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos en áreas con circulación establecida del virus de COVID-19, debe cumplir con los siguientes criterios:

1) Se puede adoptar un algoritmo en el que, por ejemplo, el cribado por rRT-PCR de un solo objetivo discriminatorio se considera suficiente (28). Aunque la recomendación para la confirmación de casos en el laboratorio es detectar dos marcadores genéticos diferentes en el genoma (por ejemplo, el gen E seguido por gen RdRP, como se describe en el protocolo Charité), una vez que se establece y se extiende la circulación del virus COVID-19 en un área/país, ya no es necesario ejecutar la rTR-PCR para ambos genes. Por lo tanto, se puede implementar la confirmación mediante la detección de un solo marcador genético, si las curvas y otros parámetros de aseguramiento de la calidad son óptimos. Se pueden usar los genes E o RdRP para el diagnóstico; sin embargo, la PCR del gen E ha demostrado una sensibilidad ligeramente mayor, por lo que se recomienda priorizar el gen E como el marcador seleccionado (4); y
2) Uno o más resultados negativos no descartan la posibilidad de infección por el virus COVID-19, ya que varios factores podrían conducir a un resultado negativo en una persona infectada, entre los cuales se encuentra (28):
    a) Mala calidad de la muestra, debido a que contiene poco material biológico del paciente. En estos casos como control, se debe considerar determinar si hay una cantidad adecuada de ADN humano en la muestra mediante la inclusión de un objetivo humano en la prueba de PCR (29). De acuerdo con la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, Testing diagnostic for SARS-CoV-2), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020; el SARS-CoV-2 se puede detectar en una amplia gama de fluidos y compartimentos corporales, pero se detecta con mayor frecuencia en material respiratorio y, por lo tanto, las muestras respiratorias siguen siendo el tipo de muestra de elección para la detección del SARS-CoV-2. Se ha demostrado que la prueba de hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo combinados de un individuo aumenta la sensibilidad para la detección de virus respiratorios y mejora la fiabilidad del resultado, por ello, se recomienda combinar dos hisopos individuales en un tubo de recolección o tomar un hisopo combinado nasofaríngeo y orofaríngeo para mejorar la confiabilidad del resultado. Algunos estudios han encontrado que los hisopos nasofaríngeos individuales dan un resultado más confiable que los hisopos orofaríngeos. Hay casos específicos en los que la recolección de muestras respiratorias del tracto superior mediante hisopado nasofaríngeo u orofaríngeo, puede ser problemática especialmente cuando se trata de personas mayores con demencia o niños pequeños, en que los fluidos orales podrían ser potencialmente una muestra adecuada. En este sentido, los fluidos orales se ha propuesto como alternativa, especialmente porque se pueden tomar fácilmente sin procedimientos invasivos

o incómodos, y minimizando la exposición potencial del trabajador de la salud. Los métodos de recolección de fluidos orales varían ampliamente, desde líquidos/saliva orofaríngeos posteriores, recolectados al escupir o babear, o recolección de líquido oral con pipeta o esponjas especiales; u hacer gárgaras con soluciones salinas es otra alternativa que se ha estudiado. La sensibilidad de estas muestras tiene un amplio rango de rendimiento en comparación con el muestreo naso y/o orofaríngeo, debido a la gran variedad de métodos de recolección y pasos de procesamiento, por ello, los laboratorios deben recolectar sus propios datos de desempeño vinculados al método local de recolección y en la población relevante para la prueba. En este momento, la OMS no recomienda el uso de saliva como único tipo de muestra para diagnósticos clínicos de rutina (29);

b) La muestra se recogió tarde o muy temprano en la infección (28); es decir, se recolectó de un compartimiento que para ese momento no tenía cantidades suficientes de virus, por ejemplo, muestras del tracto respiratorio inferior (aspirado endotraqueal, lavado broncoalveolar o esputo), en fase muy temprana o muestras del tracto respiratorio superior (hisopado nasofarígeo u orofaríngeo), en fase muy tardía durante la infección (29). De acuerdo con la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020, en relación al compartimiento y la fase de la infección en la cual se realiza la recolección de la muestra, es importante tener en cuenta, que la muestra óptima depende de la presentación clínica y el tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas. La concentración de SARS-CoV-2 en el tracto respiratorio superior es más alta en el momento de la aparición de los síntomas, después de lo cual disminuye gradualmente, por ende, las muestras de las vías respiratorias superiores son adecuadas para analizar infecciones en etapa temprana, especialmente en casos asintomáticos o leves. Adicionalmente, la presencia de ARN viral en el tracto respiratorio inferior aumenta durante la segunda semana de enfermedad. En algunos pacientes, el ARN viral puede ser detectable solo durante varios días, mientras que en otros pacientes puede detectarse durante varias semanas, posiblemente meses, por lo que se recomiendan muestras de las vías respiratorias inferiores si se recolectan más adelante en el curso de la enfermedad COVID-19, como el esputo (producido espontáneamente), y/o aspirado endotraqueal o lavado broncoalveolar, en pacientes con enfermedad respiratoria más grave, cuando la prueba de muestra del tracto respiratorio superior se obtuvo negativa, y existe una fuerte sospecha de clínica de COVID-19. Si se obtiene un resultado negativo cuando solo se recolectaron muestras del tracto respiratorio superior, se recomienda la recolección de otras muestras adicionales, tanto de las vías respiratorias superiores como inferiores, para ser analizadas a fin de investigar el SARS-CoV-2 (29);

c) La muestra fue manipulada, transportada y/o almacenada inapropiadamente (4). De acuerdo con la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020, en relación a la recolección, transporte y/o almacenamiento de la muestra, en general, para la recolección de muestras de tracto respiratorio superior (nasofarígeos y orofaríngeos), se deben usar hisopos flocados hechos con materiales sintéticos (incluyendo nylon, Dacron o poliéster, evitando de algodón), y como contenedor tubos con medios de transporte para virus (con suplementos antimicóticos y antimicrobianos), o en su defecto (en el caso de que estos no se encuentre disponible), se podrían usar solución salina estéril o solución estabilizadora de ácidos nucleicos. Por su parte, las muestras respiratorias provenientes aspirado endotraqueal o lavado brocoalveolar, así como esputo, deben recolectarse en contenedores estériles. Las muestras respiratorias para la detección del SARS-CoV-2 deben llegar al laboratorio tan rápido como sea posible luego de su recolección. Conservarse entre 2-8 °C, y enviarse al laboratorio donde se procesarán dentro de las 24-72 horas luego de la toma. Si no se pueden enviar las muestras dentro de este período, se recomienda conservarlas a -70 °C (o menos) hasta que se envíen (asegurando que se mantenga la cadena de frío). En el caso del hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo, las muestras pueden conservarse entre 2 y 8°C por 5 días o menos. Luego de 5 días, deben conservarse

en hielo seco a -70°C. Debe tenerse en cuenta, que si los hisopos se colocaron en solución salina estéril en lugar de medio de transporte viral, el envío debe ser expedito. Por su parte, las muestras de aspirado endotraqueal, lavado brocoalveolar y el esputo, se pueden conservar entre 2-8 °C hasta por 2 días o menos. Luego de 2 días, deben conservarse en hielo seco a -70 °C (29). Es importante destacar, que de acuerdo con la "Guía de bioseguridad del laboratorio relacionada a enfermedad por coronavirus (COVID-19) (en inglés, *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019* (COVID-19), publicada en su última versión el 13 de mayo de 2020, las muestras de pacientes de casos sospechosos o confirmados de COVID-19 deben transportarse como UN3373 "Sustancia biológica, Categoría B", cuando se transportan con fines diagnóstico y/o investigativos (30); como lo indica la "Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2020", publicada por la OMS el 01 de enero de 2019 (31). De acuerdo con la "Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2020", publicada por la OMS el 01 de enero de 2019; con fines de transporte, las sustancias infecciosas son materiales o productos que contienen, o se prevé razonablemente que contengan, agentes biológicos que causan enfermedades en seres humanos o animales (es decir, agentes patógenos); entre los cuales se pueden incluir los cultivos, las muestras de pacientes, los productos biológicos, los desechos médicos o clínicos, los dispositivos o equipos médicos y otras. Una sustancia infecciosa se clasifica en la categoría A, cuando se transporta en una forma que, en el caso de exposición a ella, podría causar una discapacidad permanente o una enfermedad mortal o potencialmente mortal en seres humanos o animales sanos. En otras palabras, si la sustancia sale de la embarcación que la transporta o del embalaje/envase protector utilizado durante el transporte, podría tener graves consecuencias para la salud de cualquier ser humano o animal que haya estado en contacto con ella. En acuerdo a la "Reglamentación Modelo de las Naciones Unidas", las sustancias infecciosas categoría A que pueden causar enfermedades en los seres humanos, o tanto en los seres humanos como en los animales, se les asigna el N° UN 2814, así como, la designación oficial de transporte de "sustancia infecciosa que afecta a los seres humanos" (en inglés, "*Infectious substance affecting humans*"). Por su parte, una sustancia infecciosa se clasifica en la categoría B, cuando contienen agentes biológicos capaces de causar infección en seres humanos o animales, pero que no cumplen los criterios de la categoría A; es decir, las consecuencias de una infección no se consideran gravemente discapacitantes o potencialmente mortales. La designación oficial de transporte que corresponde al N° UN 3373 para la mayoría de los envíos de sustancias infecciosas de categoría B, es "Sustancia biológica, de categoría B" (en inglés, "*Biological substance, Category B*") (31). La "Reglamentación Modelo de las Naciones Unidas", así como otros acuerdos modales, proporciona la hoja de información P650 que describe los requisitos detallados de embalaje/envasado para las sustancias infecciosas de categoría B asignadas con el N° UN 3373. De acuerdo con esta hoja de información, cualquier sistema de embalaje/envasado triple utilizado para contener una sustancia infecciosa de categoría B asignadas con el N° UN 3373, debe constar de tres capas: 1) Un recipiente primario, el cual contiene la sustancia infecciosa, debe ser hermético e impermeable a la sustancia que contiene; es decir, deberá ser a prueba de fugas si la sustancia es líquida, o a prueba de derrame si la sustancia es un sólido. Debe estar debidamente etiquetado en cuanto a su contenido, y no debe perforarse, romperse, debilitarse o verse afectado al entrar en contacto con la sustancia infecciosa. Si la sustancia infecciosa está en forma líquida o semilíquida, el recipiente primario debe estar envuelto en el suficiente material absorbente en caso de rotura o fuga, para absorber el material fugado o derramado; 2) Un segundo embalaje/envase hermético e impermeable o a prueba de derrames para encerrar y proteger el recipiente primario. Podrán colocarse varios recipientes primarios en un solo embalaje/envase secundario, siempre que contengan sustancias infecciosas de la misma clase. Si el recipiente primario es frágil, cada uno de estos debe envolverse y colocarse en el embalaje/envase secundario de forma individual o de manera que se impida el contacto entre sí. Puede ser necesario un material de amortiguación para asegurar los recipientes primarios dentro del embalaje/envase secundario; y 3) Una tercera capa exterior

de embalaje/envasado (capa protectora), que se utiliza para proteger el embalaje/envase secundario de daños físicos durante el transporte. Esta capa debe tener una resistencia adecuada al peso, tamaño y composición de los paquetes interiores, a fin de garantizar la protección de los mismos. La dimensión exterior mínima debe ser de al menos 100 mm. Los formularios de datos de espécimen, cartas, documentación suplementaria y otros tipos de información que identifiquen o describan la sustancia infecciosa deben colocarse entre el embalaje/envase secundario y las capas externas del embalaje/envasado. Si es necesario, estos documentos se pueden pegar con cinta adhesiva en el embalaje/envase secundario (31);

d) Extracción de muestra deficiente/fallida. En estos casos, se puede usar un control de extracción o la detección de un constitutivo como se mencionó anteriormente) (4). De acuerdo con la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020, la mayoría de los flujos de trabajo de diagnóstico molecular convencionales requieren la extracción de ARN de la muestra antes de realizar una prueba de rRT-PCR. El ARN se puede extraer de las muestras utilizando cualquier protocolo estándar o Kits de extracción. Sin embargo, existe una escasez mundial de kits de extracción comerciales debido a la pandemia de COVID-19. La rRT-PCR directa a partir de hisopos nasofaríngeos puede proporcionar una alternativa temporal o de emergencia a la extracción de ARN, pero las limitaciones del volumen de entrada, así como un mayor riesgo de degradación del ARN e inhibición de la PCR, pueden provocar una pérdida de sensibilidad del ensayo, y por ende falsos negativos. Así mismo, el tratamiento térmico antes del procesamiento de la muestra puede afectar la calidad del ARN al igual que otros factores como la adición de detergentes, medios de transporte, el volumen de la muestra utilizada y la enzima polimerasa utilizada. Por ende, los laboratorios que consideren métodos alternativos que eludan la necesidad de extracción de ARN deben validar sus protocolos a fondo y realizar una evaluación que sopese los beneficios y riesgos, antes de integrar dichos protocolos en un flujo de trabajo de diagnóstico que puedan afectar el rendimiento de la prueba (29);

e) Otras razones técnicas inherentes a la prueba, por ejemplo, mutación del virus o inhibición del PCR. Al igual que con cualquier ensayo de detección molecular, las mutaciones del virus en las regiones a las que se dirigen los ensayos pueden afectar la sensibilidad de la detección (28). De acuerdo con la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada en su última versión el 11 de septiembre de 2020, en relación a la disminución del rendimiento del ensayo debido a las mutaciones del SARS-CoV-2, indica que cuando se usa un ensayo de un solo objetivo genético para la detección del SARS-CoV-2, se recomienda tener una estrategia para monitorear mutaciones en las regiones de cebador/sonda que puedan afectar el rendimiento. A medida que el SARS-CoV-2 continúa adquiriendo cambios genéticos a lo largo del tiempo, los desajustes entre los cebadores y/ o sondas y los sitios de unión correspondientes dentro de los genomas del SARS-CoV-2 pueden reducir la sensibilidad de la prueba. Por ello, siempre que sea posible, es necesario controlar la existencia de discrepancias entre el cebador y la sonda debido a mutaciones del SARS-CoV-2 y evaluar su impacto. Al analizar de forma rutinaria todas las muestras con dos conjuntos de cebadores/ sondas diferentes que se dirigen a diferentes regiones genómicas, es posible reducir el riesgo de resultados falsos negativos. Hoy en día, se encuentran disponibles varias herramientas de monitoreo de mutaciones relevantes, incluidas las búsquedas realizadas por GISAID (Iniciativa global para compartir todos los datos de influenza) y otras herramientas valiosas disponibles. Es importante tener en cuenta que no todas las mutaciones en las regiones de cebador/sonda dan lugar a cambios significativos en el rendimiento. Las predicciones in silico de la eficiencia de unión son insuficientes para cuantificar el efecto de un desajuste en la sensibilidad del rRT-PCR, por lo que es esencial hacer una comparación experimental de la sensibilidad del ensayo para los aislados de virus de referencia y variantes, así como para los ensayos comerciales, es vital realizar un seguimiento de los posibles incidentes de rendimiento subóptimo (29).

Según la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su

última versión el 11 de septiembre de 2020, se encuentran disponibles en el mercado diversos ensayos de rRT-PCR realizados por sistemas abiertos (manuales) o sistemas "cerrados" (es decir, que los estuches o kits solo funcionan en sistemas de los propietarios que realizan los ensayos de manera automatizadas), muchos de los cuales se han validado de forma independiente. Algunos de estos sistemas tienen la capacidad de realizar pruebas totalmente automatizadas que integran el procesamiento de muestras, así como la capacidad de extracción, amplificación y generación de informes de ARN. Dichos sistemas brindan acceso a las pruebas en ubicaciones/locaciones con capacidad de laboratorio limitada y un tiempo de respuesta rápida. A fin de seleccionar el sistema para la realización de ensayos de rRT-PCR, que más se adecue para el laboratorio, se deben tener en cuenta diversas consideraciones, entre las que se incluyen: 1) Calidad de fabricación (CE-IVD, WHO EUL, PQ, EU-FDA u otra aprobación. Datos de validación independiente. Fabricación bajo ISO); 2) Objetivos dianas (número de dianas, especificidad para el SARS-CoV-2 u otros Sarbecovirus); 3) Controles (para las pruebas de NAAT manuales, se debe incluir un control de plantilla positivo (PTC) y al menos un control de plantilla negativo (NTC). También se recomienda el uso de un control de extracción y un control interno de adecuación de la muestra genética humana); 4) Instrumentación (¿Es el ensayo compatible con los sistemas disponibles en el laboratorio o el país?, Facilidad de uso y utilidad operativa, Oportunidad de multiplexación con otros patógenos respiratorios, Costo de la plataforma y mantenimiento, Facilidad de acceso al proveedor de mantenimiento/solución de problemas); 5) Flujo de trabajo (¿Se puede implementar el kit en el flujo de trabajo existente del laboratorio, mientras se asegura una interrupción mínima en otros diagnósticos?); 6) Facilidad de uso (complejidad del ensayo, número de pasos, formación y personal necesarios); 7) Requisitos de almacenamiento y envío (muchos kits requieren condiciones de cadena de frío durante el envío y el almacenamiento, en algunas circunstancias esto puede suponer un desafío. Algunos kits contienen enzimas liofilizadas que requieren que el kit se envíe y, a veces, se almacene en frío. Vida útil: Hasta estar preparado para períodos de pruebas intensas que podrían ser necesarias existencias, se necesita una vida útil más larga para garantizar el uso adecuado de los recursos); 8) Necesidades de capacitación y acceso (instrucciones de uso (IDU) disponibles, capacitación disponible por parte de la empresa u otros, opciones de solución de problemas proporcionadas y línea de ayuda accesible en el idioma local); 9) Necesidad de reactivos auxiliares (el kit completo para muestreo/extracción / amplificación o el kit de PCR requiere reactivos o herramientas adicionales, compatibilidad con el método de extracción de los laboratorios, compatibilidad con polimerasas adquiribles si es necesario, equipo especial necesario (por ejemplo, panel de calibración antes de ejecutar la prueba) plataformas de extracción, bloque de calor, vórtice, soporte magnético o centrífuga);y 10) Continuidad del suministro (contrato de suministro a largo plazo, rutas de suministro seguras si se producen bloqueos, costos de ensayos y reactivos auxiliares) (29).

De acuerdo a la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020, la detección molecular del SARS-CoV-2 utilizando protocolos bien diseñados y ejecutados suele ser muy verás y específica; por lo tanto, un resultado positivo confirma la detección del virus. Sin embargo, se alienta a los laboratorios a implementar en cada técnica de amplificación de ácidos nucleicos controles de calidad internos (control de plantilla positivo (PTC) y negativo (NTC), control de extracción y un control interno de adecuación de la muestra genética humana), así como a participar activamente en programas de evaluación externa de la calidad o en programas de comparación de resultados entre laboratorios de un subconjunto de muestras; a fin soportar y mantener la confiablidad de los resultados de estas pruebas. Adicionalmente, se recomienda a los laboratorios que ordenen sus propios cebadores y sondas realizar prueba/validación de funcionalidad y contaminantes potenciales. En líneas generales, antes de introducir un nuevo método de prueba, un nuevo ensayo, nuevos lotes de materiales o un nuevo personal técnico de PCR en el laboratorio, se debe llevar a cabo una verificación o validación para asegurar que el sistema de prueba del laboratorio está

funcionando adecuadamente (29).

Es importante acotar que de acuerdo con la OMS, adicionalmente a la investigación de COVID-19, los laboratorios moleculares de los Centros Nacionales de Influenza y los laboratorios nacionales de salud pública asociados al Sistema Global de Vigilancia y Respuesta a la Influenza (*Global Influenza Surveillance and Response System, GISRS*), deben seguir investigando la presencia de virus de influenza (4), utilizando el algoritmo de laboratorio de influenza recomendado por la OMS para la vigilancia epidemiológica global de influenza (32). Sin embargo, debe tenerse en cuenta, que el resultado de la prueba de rRT-PCR para el diagnóstico de COVID-19 no debe retrasarse bajo ningún motivo a causa de retrasos en la investigación de la presencia de virus de influencia, según el algoritmo recomendado por la OMS (29). Este algoritmo involucra la investigación molecular de objetivos genéticos para virus de influencia del género A (alphainfluenzavirus), como el virus A (H1N1), A (H1N1) pdm09, A (H3N2), A (N5N1), A (H7N9) y virus de influenza del género B (betainfluenzavirus) de la familia Orthomyxoviridae (33).

Por último, es conveniente siempre que sea factible, que los laboratorios lleven a cabo la secuenciación del virus en el primer caso confirmado, así como secuenciación regular de un porcentaje de muestras positivas para COVID-19, lo cual resulta útil controlar las mutaciones del genoma viral, que pueden afectar el desempeño de las medidas clínicas-epidemiológicas, y de las pruebas diagnósticas. Así mismo, la secuenciación del genoma viral completo en laboratorios con capacidad de secuenciación de Sanger o Next Generation, también es necesaria para los estudios epidemiológicos moleculares, sobre el origen del virus y la forma como se propaga (19,28). La secuenciación genómica se puede utilizar para investigar la dinámica del brote, incluidos los cambios en el tamaño de una epidemia a lo largo del tiempo, su propagación espacio-temporal y probar hipótesis sobre las rutas de transmisión. Además, las secuencias genómicas se pueden utilizar para decidir qué ensayos de diagnóstico, fármacos y vacunas que pueden ser candidatos adecuados para una exploración adicional. El análisis de los genomas del virus del SARS-CoV-2 puede, por lo tanto, complementar, aumentar y respaldar las estrategias para reducir la carga de enfermedad de COVID-19. Sin embargo, el costo y el volumen potencialmente altos del trabajo requerido para la secuenciación genómica significa que los laboratorios deben tener claridad sobre los retornos esperados de dicha inversión y lo que se requiere para maximizar la utilidad de tales datos de secuencia genómica (29). En la actualidad, muchas bases de datos de acceso público para publicar las secuenciaciones se encuentran disponibles, incluyendo GISAID (28), la cual es una asociación pública-privada entre el gobierno de Alemania y la organización sin fines de lucro "Friends of GISAID", que proporciona acceso público a la colección más completa de datos de secuencia genética de virus de la influenza y otros datos clínicos y epidemiológicos; que asegura que los contribuyentes de datos de secuencias genéticas de influencia, COVID-19 y otros, no pierdan sus derechos de propiedad intelectual sobre los datos (5). En relación a la publicación de datos de secuencia genética de agentes infecciosos, la OMS publicó un proyecto de "Código de conducta de la OMS para el intercambio abierto y oportuno de datos de secuencias genéticas de patógenos durante brotes de enfermedades infecciosas" (en inglés, WHO's code of conduct for open and timely sharing of pathogen genetic sequence data 2 during outbreaks of infectious disease), el cual se encuentra disponible en: https://www.who.int/blueprint/what/normsstandards/GSDDraftCode Conduct_forpublic consultation-v1.pdf?ua=1 (34). Actualmente, la OMS se encuentra elaborando una guía sobre la secuenciación genómica del SARS-CoV-2 (29).

Otros métodos

En respuesta a la creciente pandemia de COVID-19, a la escasez de reactivos y la reducida capacidad para la ejecución pruebas moleculares, múltiples fabricantes de pruebas de diagnósticas han desarrollado y comercializado ensayos de uso rutinario en el laboratorio, así como ensayos rápidos que pueden ser ejecutados en los puntos de atención primaria a pacientes fuera del laboratorio (35).

De acuerdo con la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*),

publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020, las nuevas pruebas de diagnóstico de COVID-19 pueden implicar la detección del virus en sí (antígenos virales) o la detección de la respuesta inmune humana a la infección (anticuerpos u otros biomarcadores). Sin embargo, todavía la confirmación estándar de infecciones por SARS-CoV-2 se basa en la detección de secuencias virales únicas por pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT), como la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa en tiempo real (rRT-PCR) (29).

Pruebas de Antígenos

Según las "Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19", publicada por PAHO/OMS en su última versión el 08 de julio de 2020 (36); existe en el mercado diferentes ensayos inmunológicos, capaces de detectar proteínas producidas por la replicación del SARS-CoV-2, en las secreciones respiratorias (por ejemplo, hisopo nasofarígeo u orofaríngeo, esputo etc.), de los pacientes COVID-19. Estas proteínas pueden ser detectadas a través de métodos inmunológicos rutinarios fundamentados en técnicas de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (en inglés, *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA*), inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA), y otras, así como métodos inmunológicos rápidos fundamentados en técnicas de inmunocromatrografía (36). De acuerdo con las guías "Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19", publicada por PAHO/OMS el 08 de julio de 2020 y "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020; en relación a las pruebas de detección de antígenos, tienen una especificidad alta en comparación con la rRT-PCR, a pesar de que se pueden producir resultados falsos positivos si los anticuerpos empleados en el ensayo también reconocen antígenos de virus distintos del SARS-CoV-2, como otros coronavirus humanos. En relación a su sensibilidad, son menos sensibles con respecto a la rRT-PCR, debido a que por un lado no hay amplificación de la diana que se detecta, que por lo general suele ser la proteína de la nucleocápside del virus (Proteína N), preferida debido a su abundancia relativa, y por el otro, debido a que la expresión de las proteínas antigénicas dependen de la fase de la infección y la presentación clínica. Hasta los momentos, se ha evidenciado un mayor rendimiento de estas pruebas de antígeno con cargas virales altas; que generalmente aparecen en pacientes sintomáticos, entre 1-3 días antes del inicio de los síntomas, y en fases tempranas de la enfermedad, dentro de los primeros 5 a 7 días de la enfermedad (tanto en pacientes asintomáticos o sintomáticos, ya que se ha demostrado que los casos asintomáticos tienen cargas virales similares a los casos sintomáticos durante los primeros días de infección). Por ende, la realización de estas pruebas en pacientes luego de 5 a 7 días después del inicio de los síntomas, cuando las cargas virales son más bajas, tienen mayor probabilidad de resultar en falsos negativos (29,36).

Según la guía "Detección de antígenos en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante inmunoensayos rápidos" (en inglés, *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays*), publicada por la OMS el 11 de septiembre de 2020, actualmente, los datos sobre el rendimiento de las pruebas de antígenos en el entorno clínico todavía son limitados. Sin embargo, hasta los momentos han demostrado constantemente una especificidad alta (>97%) y una sensibilidad muy variable (0-94%) en muestras del tracto respiratorio superior (hisopos nasales o nasofaríngeos), en comparación con la rRT-PCR (37).

De acuerdo con la guía "Asesoramiento sobre el uso de pruebas de inmunodiagnóstico en el punto de atención para COVID-19" (en inglés, *Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19*), publicada por la OMS el 08 de abril de 2020, se estima que este tipo de pruebas con sensibilidades entre el 34 y 81%; pueden reportar resultados negativos en la mitad o más de la mitad de los pacientes infectados con SARS-CoV-2, por lo cual no podrían emplearse en el diagnóstico de COVID-19 (35). Sin embargo, según las guías "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020, y "Detección de antígenos en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante inmunoensayos rápidos" (en inglés, *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays*), publicada por la OMS el 11 de septiembre de 2020; cuando el rendimiento de estas pruebas es aceptable (≥80% de sensibilidad y ≥97% de especificidad en comparación con un ensayo de referencia rRT-PCR), se pueden implementar en un algoritmo de diagnóstico para reducir la cantidad de pruebas moleculares que deben realizarse y para respaldar la identificación y el manejo rápido de los casos de COVID-19, en una

variedad de entornos donde la oferta de rRT-PCR es limitada o no está disponible, o cuando los tiempos de respuesta prolongados impiden la utilidad clínica de la rRT-PCR. En este sentido, si el resultado es positivo, puede ser usado como criterio de confirmación (en conjunto con la definición de caso, la historia clínica y los antecedentes epidemiológicos), y para tomar decisiones en salud pública (por ejemplo aislamiento y rastreo de contactos), mientras que si el resultado es negativo (en cualquier estadio de la infección), no debe ser usado como criterio para descartar un caso y excluir por completo una infección activa por COVID-19, por lo tanto, se deben realizar pruebas repetidas y pruebas confirmatorias de rRT-PCR, particularmente en pacientes sintomáticos (28,37).

De acuerdo con la guía "Detección de antígenos en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante inmunoensayos rápidos" (en inglés, *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays*), publicada por la OMS el 11 de septiembre de 2020, las pruebas de detección de antígenos que cumplen los requisitos mínimos de rendimiento (≥80% de sensibilidad y ≥97% de especificidad en comparación con un ensayo de referencia de rRT-PCR), permiten la ocasión de un diagnóstico temprano, en la fase aguda de la infección (cuando la carga viral y el riesgo de transmisión son más altos), en donde existen muchas más oportunidades de intervención clínica así como de interrupción de la transmisión mediante el aislamiento selectivo y la cohorte de los casos más infecciosos y sus contactos cercanos, reduciendo o eliminando la necesidad de realizar pruebas más costosas de confirmación molecular, principalmente en escenarios de transmisión comunitaria, caracterizados por la existencia de brotes de transmisión local generalizados de COVID-19, en los que existe una alta prevalencia esperada de la enfermedad (es más probable que una persona que de positivo en la prueba de detección de antígenos, tenga COVID-19), y donde el valor predictivo de una prueba positiva es alto y el riesgo de falsos positivos es bajo. Así mismo, se recomienda que para la introducción inicial de las pruebas de detección de antígenos en uso clínico, se deben considerar seleccionar algunos entornos donde las pruebas de confirmación de rRT-PCR estén disponibles actualmente, para que el personal pueda ganar confianza en los ensayos, confirmar y validar el desempeño de la prueba seleccionada, así como solucionar cualquier problema de implementación encontrado, teniendo en cuenta que, siempre que se utilicen rRT-PCR como pruebas de confirmación en pacientes examinados previamente con pruebas de detección de antígenos, las muestras para las dos pruebas deben recolectarse aproximadamente al mismo tiempo, o como máximo en un período de menos de 2 días. En situaciones donde las pruebas de confirmación con rRT-PCR no son factibles, cualquier indicio de que los resultados pueden ser incorrectos debe levantar sospechas sobre la validez. Los ejemplos incluirían pacientes que dan positivo en la prueba pero que tienen un síndrome clínico que no es compatible con COVID-19, o pacientes con una prueba positiva detectada en un entorno de baja prevalencia. Igualmente, pacientes que son negativos en la prueba pero que tienen un síndrome clásico o son contactos cercanos de un caso, pacientes con una prueba negativa detectada en un entorno de alta prevalencia o pacientes que resultan negativos pero existe alguna incertidumbre en la idoneidad del muestreo y la muestra por: 1) Mala calidad de la muestra, porque contiene poco material biológico del paciente; 2) La muestra se recolectó muy tarde o muy temprano en la infección, es decir, se recolectó de un compartimiento que para ese momento no tenía cantidades suficientes de proteínas antigénicas del virus (La mayoría de las pruebas fabricadas actualmente requieren de muestras nasales o nasofaríngeas que deben ser recolectadas en hisopos dentro de los primeros 5 a 7 días luego de iniciados los síntomas. Sin embargo, actualmente, las empresas están llevando a cabo estudios para evaluar el rendimiento de sus pruebas utilizando tipos de muestras alternativos como saliva y fluidos orales, a fin de expandir potencialmente las opciones de uso y facilitar la seguridad); y 3) La muestra fue recolectada, transportada y/o almacenada inapropiadamente, de acuerdo a las indicaciones del fabricante (37). Adicionalmente, no se recomienda el uso pruebas de detección de antígenos en entornos o poblaciones con una baja prevalencia esperada de la enfermedad, especialmente donde las pruebas de confirmación rRT-PCR no están disponibles fácilmente. En estos entornos el uso de estas pruebas no será posible hasta que hayan más datos de estudios de alta calidad que confirmen una alta especificidad (> 99%) de uno o más de los kits de prueba de detección de antígenos comercializados) (37).

Hasta ahora solo dos pruebas para la detección de antígenos por inmunoensayos rápidos han sido enlistadas (Lista de Uso de Emergencia) por la OMS para uso de emergencia durante la pandemia de COVID-19:

1) "*Standard Q COVID-19 Ag Test*" de SD Biosensor, Inc.; el 22 septiembre de 2020; y
2) "Panbio COVID-19 Ag Rapid Test" de Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH, el 02 de octubre de 2020 (27).

Pruebas de anticuerpos

De acuerdo con las guías "Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19", publicada por PAHO/OMS el 08 de julio de 2020; y "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020; existen en el mercado diferentes ensayos inmunológicos, capaces de detectar anticuerpos IgM, IgG o IgA (en diferentes combinaciones), generados como parte de la respuesta inmune del individuo contra el virus causante de COVID-19, que pueden detectarse en el plasma o suero alrededor del día 7 luego el inicio de los síntomas, en aproximadamente 50% de los casos, y el día 14 luego del inicio de los síntomas en el 90% de los pacientes. Estos anticuerpos pueden ser detectados a través de métodos inmunológicos rutinarios fundamentados en técnicas de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (en inglés, *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA*), inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA), y otras, así como métodos inmunológicos rápidos fundamentados en técnicas de inmunocromatrografía (28, 36).

En relación a las pruebas rutinarias, realizan la determinación cuantitativa o semicuantitativa de los anticuerpos presentes, por lo cual pueden detectar variaciones en los títulos de anticuerpos. En estas pruebas, la especificidad está afectada por reacciones cruzadas a causa de la presencia de anticuerpos dirigidos contra otros coronavirus causantes de infecciones humanas (como los alfacoronavirus 229E (HCoV-229E) y NL63 (HCoV-NL63), y los betacoronavirus OC43 (HCoV-OC43) y HKU1 (HCoV-HKU1), que pueden causar enfermedades de tipo influenza o neumonía en humanos), y zoonóticas; así como con la presencia de afecciones preexistentes (por ejemplo, embarazo, enfermedades autoinmunes) y, por lo tanto, pueden arrojar resultados falsos positivos. Por su parte, la sensibilidad está afectada por asuntos relacionados al diseño de los ensayos así como por aspectos inherentes a la dinámica de la respuesta inmune y producción de anticuerpos en el huésped durante las distintas fases de la infección y presentación clínica. En relación al diseño de la prueba, se tiene que en general la mayor proporción de anticuerpos son producidos contra la proteína más abundante del virus que es la de la Nucleocápside (N). Por ello, los ensayos que detectan anticuerpos contra esta proteína suelen ser más sensibles. Sin embargo, los anticuerpos dirigidos contra la proteína de unión a los receptores celulares (proteína S) suelen ser más específicos. Por ende, los ensayos que detecten anticuerpos IgG y/o IgM dirigidos contra los dos antígenos tienen un mejor desempeño, a pesar que ambos anticuerpos pueden presentar reactividad cruzada con SARS-CoV e incluso con otros coronavirus humanos. En cuanto aspectos inherentes a la dinámica de la respuesta inmune y producción de anticuerpos en el huésped durante las distintas fases de la infección y presentación clínica; de acuerdo con la guía "Asesoramiento sobre el uso de pruebas de inmunodiagnóstico en el punto de atención para COVID-19" (en inglés, *Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19*), publicada por la OMS el 08 de abril de 2020, hasta los momentos, algunos estudios demuestran que la fuerza de la respuesta inmunológica de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 depende de varios factores, como la edad, el estado nutricional, ciertos medicamentos o infecciones como el VIH que inhiben el sistema inmunitario; por ello, algunas personas confirmadas COVID-19 mediante pruebas moleculares, han evidenciado respuestas de anticuerpos débiles, tardías o ausentes (28,36).

Adicionalmente, según la guía "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020; se ha observado que la seroconversión (desarrollo de una respuesta de anticuerpos medible después de la infección), es más sólida y rápida en pacientes con enfermedad grave en comparación con aquellos con enfermedad más leve o infecciones asintomáticas. Los anticuerpos se pueden detectar al final de la primera semana de enfermedad (luego de la fase aguda), en una fracción de pacientes, pero también pueden tardar semanas en desarrollarse en pacientes con infección subclínica/leve (28). De igual manera, según el resumen científico "Pasaporte a la Inmunidad" en el contexto COVID-19 (en inglés, *"Immunity passports" in the context of COVID-19*), publicado por la OMS el 24 de abril de 2020, la mayoría de las personas que se han recuperado de la infección COVID-19 tienen anticuerpos contra el virus. Sin embargo, algunas de ellas tienen niveles muy bajos o

nulos de anticuerpos neutralizantes que no ofrecen inmunidad protectora, lo que sugiere que la inmunidad celular también puede ser crítica para la recuperación de la infección por SARS-CoV-2 (38).

Así mismo, una detección de anticuerpos positiva en un paciente podría ser consecuencia de una infección previa y no de la infección actual que se pretende diagnosticar. Por ejemplo, un paciente que haya tenido contacto previo con el virus (no necesariamente enfermo), pero que posteriormente se infecte con otro patógeno circulante (influenza u otro agente etiológico), que también genere síntomas respiratorios, va a resultar positivo para anticuerpos COVID-19, llevando a un diagnóstico errado. Por último, la detección de anticuerpos a menudo solo será posible en la fase de recuperación, cuando muchas de las oportunidades de intervención clínica o interrupción de la transmisión de la enfermedad ya han pasado, además, no aporta información acerca de la persistencia viral, o por el contrario, la ausencia del virus durante la resolución de la infección por los pacientes sobrevivientes, por lo cual tampoco sirve para la toma de decisiones para el alta médica.

En relación a las pruebas rápidas para la detección de anticuerpos contra el SARS-CoV2, realizan la determinación cualititativa de los anticuerpos presentes a través técnicas de inmunocromatrográficas. Es importante mencionar, que adicionalmente a todas las limitaciones anteriormente descritas, estas pruebas tienen menor sensibilidad que las pruebas rutinarias cuantitativas o semicuantitativas (28,36).

Es por ello, que de acuerdo "Pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2" (en inglés, *Testing diagnostic for SARS-CoV-2*), publicada por la OMS en su última versión el 11 de septiembre de 2020; los ensayos rutinarios y rápidos para la detección de anticuerpos no deben ser empleados para el diagnóstico agudo así como el tratamiento clínico e identificación de casos COVID-19 o con fines de rastreo de contactos. En los casos donde los ensayos de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos no se realicen o resulten negativo, pero existe un fuerte vínculo clínico y epidemiológico con la infección por el virus causante de COVID-19, el procesamiento de muestras de suero pareadas mediante métodos comerciales rutinarios cuantitativo o semicuantitativos validados, que miden IgG (la mayoría de estos estudios no muestran ninguna ventaja de la IgM sobre la IgG, ya que la IgM no aparece mucho antes que la IgG), puede ayudar a la confirmación de la infección reciente. La primera muestra debe recolectarse durante la fase aguda de la enfermedad y la segunda muestra al menos 14 días después de la recolección de los sueros iniciales. Se espera que los niveles máximos de anticuerpos ocurran en la tercera/cuarta semana después del inicio de los síntomas. La seroconversión o un aumento en los títulos de anticuerpos en sueros emparejados ayudarán a confirmar si la infección es reciente y/o aguda. Si la muestra inicial da positivo, este resultado podría deberse a una infección pasada que no está relacionada con la enfermedad actual (28). Los ensayos rutinarios y rápidos para la detección de anticuerpos contra el SARS-CoV-2, no son considerados como pruebas diagnósticas, su implementación debe estar enfocada principalmente en estudios de seroprevalencia, para apoyar la investigación de un brote en curso y para respaldar la evaluación retrospectiva de la tasa de ataque o el tamaño de un brote (28, 36).

Conclusiones

En esta revisión se precisaron las orientaciones emanadas de la OMS en relación a las pruebas de laboratorio para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19, al cumplirse más de 6 meses de la declaración de pandemia por COVID-19, el 11 de marzo de 2020. De acuerdo con la OMS, hoy en día, las pruebas de diagnóstico de COVID-19 implican la detección del virus en sí (ARN viral o antígenos virales) o la detección de la respuesta inmune humana a la infección (anticuerpos u otros biomarcadores). Sin embargo, la confirmación estándar de infecciones por SARS-CoV-2 se basa en la detección de secuencias virales únicas por pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT), como la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa en tiempo real (rRT-PCR).

Al momento de concluir este artículo, el 11 de octubre de 2020, han transcurrido 215 días (7 meses) desde que la OMS declaro a la COVID-19 como una pandemia. Para esta fecha, según la OMS, existen en el mundo 37.423.660 casos confirmados y 1.074.817 fallecimientos por COVID-19, reportados a la OMS (39).

Este artículo se escribe en memoria a las víctimas del SARS-CoV-2, y se dedica a todos los profesionales del laboratorio, responsables de la ejecución de pruebas para la detección y diagnóstico de COVID-19; imprescindibles en la lucha contra esta pandemia.

Referencias

1. WHO. Nuevo coronavirus-China. WHO [página web en Internet]. 12 de Enero de 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/es/
2. WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation report-1. WHO [página web en Internet]. 21 january 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Coronavirus disease 2019.
3. WHO. Pruebas de laboratorio para el nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV), en casos sospechosos de infección en humanos. Orientaciones provisionales. WHO [página web en Internet]. 17 enero 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: apps.who.int › iris › handle
4. PAHO/WHO. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus de COVID-19. PAHO/WHO [página web en Internet]. 30 de marzo de 2020 [Citado 03 de abril de 2020] Disponible en: www.paho.org › documentos › directrices-laboratorio-para-deteccion-...
5. Global Initiative on Sharing All Influenza Data. Countries around the globe share an increasing number of hCoV-19 genome sequences. GISAID [página web en Internet]. 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.gisaid.org
6. Global Initiative on Sharing All Influenza Data. Newly discovered betacoronavirus, Wuhan 2019-2020. GISAID [página web en Internet]. 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: platform.gisaid.org/epi3/frontend#414223.
7. WHO. Virus origin / Reducing animal-human transmission of emerging pathogens. Origin of SARS-CoV-2 (26 March 2020). WHO [página web en Internet]. 26march, 2020 [Citado 29 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › Health topics › Coronavirus
8. WHO. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. WHO [página web en Internet]. 11 february 2020. Disponible en: www.who.int › ... › Technical guidance
9. WHO. Intervención del Director General de la OMS en la conferencia de prensa sobre el 2019-nCoV del 11 de febrero de 2020. WHO [página web en Internet]. 11 de febrero de 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Discursos del Director General de la OMS › details
10. WHO. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. WHO [página web en Internet]. 11 february 2020. Disponible en: www.who.int › ... › Technical guidance
11. WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation report-22. WHO [página web en Internet]. 11 january 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Coronavirus disease 2019
12. WHO. Coronavirus disease 2019 COVID-19. Situation report-49. WHO [página web en Internet]. 09 march 2020 [Citado 12 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Coronavirus disease 2019
13. WHO. Alocución de apertura del Director General de la OMS en la rueda de prensa sobre la COVID-19 celebrada el 11 de marzo de 2020. WHO [página web en Internet]. 11 de marzo de 2020 [Citado 13 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Discursos del Director General de la OMS › details
14. WHO. Novel Coronavirus (2019 nCoV): Strategic Preparedness and Response Plan. WHO [página web en Internet]. 3 february, 2020 [Citado 27 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › coronaviruse › srp-04022020
15. WHO. Surveillance case definitions for human infection with 2019 nCoV. Interim guidance. WHO [página web en Internet]. 15January 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › WHO documents detail
16. WHO Public healtg surveillance for COVID-19. WHO [página web en Internet]. 07 agost 2020 [Citado 11 de septiembre de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › Publications detail)
17. WHO. Critical preparedness, readiness and response actions for COVID-19. WHO [página web en Internet]. 24 jun 2020 [Citado 11 de septiembre de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › Publications detail)
18. WHO. Considerations in the investigations of cases and clusters of COVID-19. Interine guidance. WHO [página web en Internet]. 02 april de 2020 [Citado 11 de septiembre de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › Publications detail
19. WHO. Laboratory Testing strategy recommendations for COVID-19. WHO [página web en Internet]. 21 march 2020 [Citado 27 de marzo de 2020] Disponible en: www.who.int › ... › Technical guidance
20. WHO. Novel Coronavirus (2019 nCoV): Strategic Preparedness and Response Plan. WHO [página web en Internet]. 3 february, 2020 [Citado 27 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › coronaviruse › srp-04022020
21. WHO. In-house developed molecular assays COVID-19. WHO [página web en Internet]. 02 march 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance
22. PAHO. Respuesta de la OPS/OMS. 31 de marzo del 2020. Informe N.o 1. PAHO/WHO [página web en Internet]. 31 de marzo de 2020 [Citado 03 de abril de 2020] Disponible en: http://www.paho.org/es/documentos/COVID-19-respuesta-opsoms-reporte-2-31-marzo-2020
23. WHO. Molecular assays to diagnose COVID-19. WHO [página web en Internet]. 02 march 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance
24. WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation report-44. WHO [página web en Internet]. 04 March 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Coronavirus disease 2019.
25. WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation report-79. WHO [página web en Internet]. 08 april 2020 [Citado 11 de abril de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › ... › Coronavirus disease 2019.

26. WHO. WHO lists two COVID-19 tests for emergency use. WHO [página web en Internet]. 07 april 2020 [Citado 11 de abril de 2020] Disponible en: https://www.who.int/news-room/detail/07-04-2020-who-lists-two-COVID-19-tests-for-emergency-use
27. WHO. WHO Emergency Use Listing for In vitro diagnostics (IVDs) Detecting SARS-CoV-2. WHO [página web en Internet]. 02 october 2020 [Citado 12 de octubre de 2020] Disponible en: https:// www.who.int/diagnostics_laboratory/ 201002_ eul_sars_cov2_product_list.pdf?ua=1
28. WHO. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance. [página web en Internet]. 19 March 2020 [Citado 25 de marzo de 2020] Disponible en: http://www.who.int › laboratory-guidance
29. WHO. Testing diagnostic for SARS-CoV2. Interim guidance. [página web en Internet]. 11 September 2020 [Citado 02 de octubre de 2020] Disponible en: http://www.who.int › laboratory-guidance
30. WHO. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19). Interim guidance. [página web en Internet]. 13 may 2020 [Citado 11 de septiembre de 2020] Disponible en: http:// www.who.int › publications-detail
31. WHO. Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019–2020. WHO [página web en Internet]. 01 january 2019 [Citado 21 de abril de 2020] Disponible en: http://www.who.int › publications › WHO-WHE-CPI-2019.20
32. WHO. Global Epidemiological Surveillance Standards for Influenza. WHO [página web en Internet]. january 2014 [Citado 23 de abril de 2020] Disponible en: https://www.who.int/influenza/resources/documents/influenza_surveillance_manual/en/
33. WHO. WHO information for the molecular detection of influenza viruses. WHO [página web en Internet]. january 2020 [Citado 23 de abril de 2020] Disponible en: https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/molecular_diagnosis/en/
34. WHO. WHO's code of conduct for open and timely sharing of pathogen genetic sequence data 2 during outbreaks of infectious disease. WHO [página web en Internet]. 2016 [Citado 23 de marzo de 2020] Disponible en:https://www.who.int/blueprint/what/normsstandards/GSDDraftCodeConduct_forpublicconsultation-v1.pdf?ua=1.
35. WHO. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. Scientific brief. WHO [página web en Internet]. 8 april 2020 [Citado 24 de abril de 2020] Disponible en: https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-COVID-19
36. PAHO/WHO. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus de COVID-19. PAHO/WHO [página web en Internet]. 08 de julio de 2020 [Citado 02 de octubre de 2020] Disponible en: www.paho.org › documentos › directrices-laboratorio-para-deteccion-...
37. WHO. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. WHO [página web en Internet]. 11 september de 2020 [Citado 02 de octubre de 2020] Disponible en: https://www.who.int/publications-detail-redirect/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays.
38. WHO. "Immunity passports" in the context of COVID-19. Scientific Brief. WHO [página web en Internet]. 24 april 2020 [Citado 25 de abril de 2020] Disponible en: https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/immunity-passports-in-the-context-of-COVID-19.
39. WHO. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. WHO [página web en Internet]. 11 october 2020 [Citado 11 de octubre de 2020] Disponible en: https://www.who.int/redirect-pages/page/novel-coronavirus-(covid-19)-situation-dashboard.

PRUEBAS ANTIGÉNICAS EN LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE COVID-19

Carlos D'Suze García[1], Josefa Villasmil Arias[2], Luis Echezuria Marval.[3]

[1]Medico Pediatra y Epidemiólogo. Profesor Agregado a Dedicación Exclusiva, Centro de Investigación en Salud Pública Dr. Jacinto Convit. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. [2]Licenciada en Bioanálisis, Doctora en Ciencias Mención Inmunología. Profesor Agregado a Dedicación Exclusiva, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. [3]Médico Pediatra. Epidemiólogo. Profesor Titular Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela.

Recibido para publicación 30 Diciembre 2020. Aceptado 15 Enero 2021.

RESUMEN:
La rápida propagación en la comunidad de la infección causada por el nuevo coronavirus humano, el SARS-CoV-2 y las crecientes estadísticas de mortalidad por la COVID-19, han generado una necesidad sin precedentes de pruebas diagnósticas precisas para una detección rápida y sensible, seguida de la búsqueda de contactos y aplicación de estrategias de contención. Cuando aún no se disponen de medicamentos eficaces para su tratamiento y la producción y aplicación de vacunas está comenzando a ser una realidad, la mejor estrategia de salud pública ante la COVID-19 debe ser fundamentada en la historia natural de la enfermedad al tratar de interrumpir la cadena de transmisión del virus, y al mismo tiempo disminuir el alto costo en vidas humanas, que busca en lo posible evitar la enfermedad, sus complicaciones, secuelas y muertes. Un diagnóstico precoz y rápido para tomar medidas de control como aislamiento de casos o cuarentena a los contactos, limitar o restringir las reuniones grupales, restringir la movilización humana, debe incluir el despistaje o testeo de contactos en las comunidades. A partir de los expuesto, nuestro objetivo es brindar un enfoque actualizado acerca de la utilización y rendimiento de las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la COVID-19 haciendo particular referencia a las pruebas rápidas de detección de antígeno para optimizar las medidas de control y de vigilancia epidemiológica en las distintas comunidades.

Palabras clave: COVID-19, Pruebas Diagnósticas, Pruebas Antigénicas, Vigilancia Epidemiológica.

ANTIGENIC TESTS IN COVID-19 EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE

SUMMARY
The rapid spread in the community of infection caused by the new human coronavirus, SARS-CoV-2 and increasing mortality statistics from COVID-19, have created an unprecedented need for accurate diagnostic tests for rapid and sensitive detection, followed by contact search and implementation of containment strategies. When effective medicines are not yet available for treatment and vaccine production and application is beginning to become a reality, the best public health strategy for COVID-19 must be based on the natural history of the disease when trying to disrupt the virus's transmission chain, while reducing the high cost in human lives, which seeks as much as possible to avoid the disease, its complications, sequelae and deaths. Early and rapid diagnosis to take control measures such as case isolation or quarantine to contacts, limiting or restricting group meetings, restricting human mobilization, should include desisting or testing contacts in communities. From those set out above, our goal is to provide an up-to-date approach to the use and performance of laboratory tests for the diagnosis of COVID-19 by making particular reference to rapid antigen screening tests to optimize control and epidemiological surveillance measures in different communities.

Keywords: COVID-19, Diagnostic Tests, Antigenic Testing, Epidemiological Surveillance.

Introducción

La infección ocasionada por el nuevo virus del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2), agente etiológico de la enfermedad asociada a éste, la COVID-19, que se inició en diciembre de 2019 con los primeros casos de neumonía reportados en Wuhan, China y que fue declarada como pandemia por la OMS en marzo de 2020 (1), de acuerdo a los últimos reportes oficiales, hasta el día 25 de enero de 2021,

Solicitar copia a: Carlos D'Suze García (cjdsuze@gmail.com)

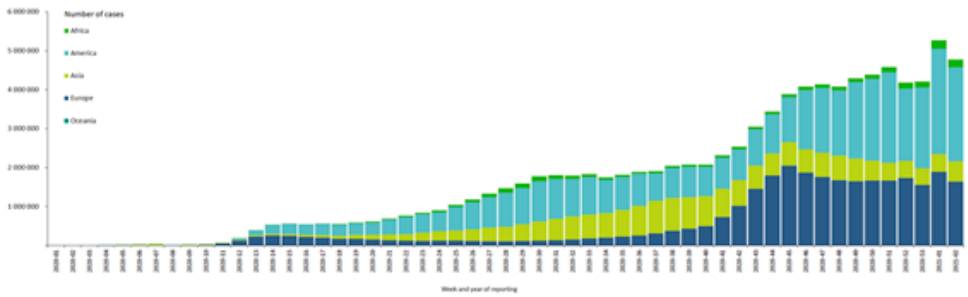


Figura 1. Distribución de casos confirmados por COVID-19 hasta enero 2021 (2).

se ha alcanzado a nivel mundial 100.792.989 casos confirmados y 2.164.395 defunciones(2). En Venezuela se han reportado 124.112 casos con 1.154 defunciones, para una letalidad del 0,9% (3).

El síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) y la enfermedad infecciosa causada por éste en 2019 (COVID-19) han exigido una rápida implementación de los ensayos de diagnóstico in vitro para permitir la detección masiva en grupos de alto riesgo y a la vez la verificación simultánea de datos sólidos sobre la exposición anterior al SARS-CoV-2 en un nivel individual y poblacional. Para satisfacer la demanda exponencial en las pruebas, ha habido un acelerado desarrollo de ensayos moleculares y serológicos a través de una plétora de plataformas. La presente revisión analiza la literatura actual sobre estas modalidades, incluidas las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, las pruebas directas de antígenos virales y las pruebas serológicas en laboratorio en el lugar de atención en rápida expansión. Este conjunto de pruebas complementarias busca orientar sobre la toma de decisiones cruciales de los proveedores de atención médica y los responsables de la aplicación de las medidas de control epidemiológico para el manejo adecuado de los brotes del COVID-19. Comprender sus fortalezas y limitaciones será fundamental para su aplicación juiciosa para el desarrollo de enfoques algorítmicos para el tratamiento de esta enfermedad y la salud pública (4).

Metodología

En este trabajo realizamos una revisión bibliográfica y documental de la literatura con el objetivo de identificar evidencia que podría usarse para evaluar la eficacia clínica de las pruebas diagnósticas que detectan la presencia de antígeno del SARS-CoV-2 para informar el diagnóstico del COVID-19 y su utilización en la vigilancia epidemiológica y el control.

Aspectos epidemiológicos. Situación actual COVID-19

Agente etiológico

El SARS-CoV-2, que produce la COVID-19, es un virus grande envuelto con genoma de ARN, junto a los otros coronavirus, evolucionan fácilmente por mutación y recombinación homóloga y no homóloga, que les permite expandir su rango de hospedadores y les facilita el cruce de barreras de especies. Tienen una variedad extensa de reservorios animales, especialmente entre murciélagos, y su plasticidad en términos de uso de receptores celulares hace que los coronavirus (CoVs), sean altamente eficaces en el cambio de hospedero, a veces a través de amplias distancias taxonómicas (5).

Fuente de infección

Aunque el origen de infección por SARS-CoV-2 no está totalmente establecido, los estudios filogenéticos revisados hasta la fecha apuntan a que muy probablemente el virus provenga de murciélagos y que de allí haya pasado al ser humano a través de mutaciones o recombinaciones sufridas en un hospedador intermediario. Se planteó que este animal pudiera ser el pangolín bien de forma directa o indirecta, a través de otra especie, sin que se haya llegado a una conclusión definitiva. Al transmitirse al humano, este se convierte en fuente de infección para el resto de la especie humana (6,7,8).

Periodo de Incubación

El periodo de incubación de la COVID-19, tiempo entre la exposición al virus y la aparición de los síntomas, sugieren un periodo promedio de 5 a 6 días, con un rango de 2 a 14 días. Hay evidencia que sugiere que la transmisión puede ocurrir de una persona infectada

incluso 2 días antes de mostrar los síntomas (9,10,11).

Periodo de transmisibilidad

El periodo de trasmisibilidad puede comenzar 1 o 2 días antes de que aparezcan los síntomas, pero es probable que las personas sean más infecciosas durante el periodo sintomático, incluso si los síntomas son leves y muy inespecíficos. Ahora se estima que el periodo infeccioso dura entre 7 y 12 días en los casos moderados y hasta dos semanas en promedio en los casos graves (10,11,12,13).

Modo de transmisión

La COVID-19 se propaga principalmente a través del contacto directo y cercano de persona a persona:

- Personas en contacto directo con secreciones infectantes entre personas que están en contacto cercano (a una distancia de hasta aproximadamente 2 metros).
- A través de gotitas respiratorias que se producen cuando una persona infectada tose, estornuda o habla, estas gotitas pueden terminar en los ojos, la boca o en la nariz de quienes se encuentran cerca o posiblemente ser inhaladas y llegar a los pulmones.

El virus puede propagarse de otras maneras indirectas, podría ser posible que una persona se infecte por el SARS-CoV-2, al tocar una superficie u objeto que tenga el virus y luego se toque la boca, la nariz o los ojos. No se cree que esta sea la principal forma de propagación del virus (11,14). Microgotas en dispersión del virus, en especial y más frecuente en espacios cerrados y no ventilados (15,16,17).

Medidas de Control

En los enfoques estratégicos para la prevención y el control de la COVID-19, está el punto de vista a nivel individual y a nivel poblacional, dado que la enfermedad es producto de una compleja interacción de factores proximales y distales al individuo, en interdependencia con su contexto biológico, físico, social, económico, ambiental e histórico. El enfoque individual pone énfasis en la prevención y el control de las causas de las enfermedades en las personas, en particular en aquellas con alto riesgo de enfermar o de tener complicaciones o incluso morir (18).

El conocimiento epidemiológico sobre las enfermedades permite clasificarlas y obtener una medida de su importancia y posibilidad de prevención. El conocimiento de la historia natural de la enfermedad nos permite prevenir y la posibilidad de intervenir efectivamente sobre ella. De esta manera participa el control de las enfermedades, como conjunto de acciones, programas y operaciones continúas dirigidas a reducir la incidencia a niveles tales que dejen de constituir un problema de salud pública. En un escenario epidémico, el control significa conseguir rápidamente una curva descendente y, eventualmente, agotar la epidemia, retornando a los niveles esperados, lo más rápido posible.

Las medidas a utilizar deben depender de la enfermedad, sus características y comportamiento epidemiológico, de los recursos disponibles eficaces y de las actitudes de la población.

En las medidas dirigidas al agente causal y la fuente de infección, destacan:

- Aislar y limitar el movimiento de los casos durante el periodo de transmisibilidad

Buscar e identificar a los casos a través de la detección, diagnostico, notificación y seguimiento de los casos, hasta su alta epidemiológica como transmisor de la infección, a través de la vigilancia epidemiológica o por la investigación de campo

- La quimioterapia para la COVID-19 no ha presentado una alternativa terapéutica efectiva, para eliminar el agente de pacientes infectados, a pesar del gran esfuerzo de la comunidad científica.

El control de la puerta de salida respiratoria desde la fuente de infección es la más difícil, dando lugar a la aplicación de medidas de aislamiento de los casos, esto conlleva a disponer de pruebas diagnósticas que permitan el diagnóstico temprano para la aplicación de las medidas oportunas.

Las medidas de prevención para la COVID-19 se dirigen fundamentalmente sobre el modo de transmisión, sabiendo que la transmisión de persona a persona ocurre más comúnmente durante la exposición cercana a una persona infectada con el virus que causa COVID-19, que tal y como mencionamos anteriormente, ocurre principalmente a través de gotitas respiratorias producidas cuando la persona infectada habla, tose, estornuda o grita. Por lo que las medidas, deben estar dirigidas a disminuir este contacto, con el uso de mascarilla, el distanciamiento físico, el lavado de manos frecuentemente, evitar las aglomeraciones y preferir espacios abiertos poco concurridos, así como equipos de protección personal adecuados para las

personas que por razones ocupacionales deben tener contacto cercano con otras personas potencialmente enfermas.

Por último, las medidas de prevención y control dirigidas al huésped susceptible, están encaminadas a mejorar la capacidad del huésped para resistir el ataque del agente productor de la enfermedad, ya sea disminuyendo su susceptibilidad, aumentando su resistencia o disminuyendo su nivel de exposición. El esfuerzo más importante de la comunidad científica ha sido el gran esfuerzo por el desarrollo de vacunas eficaces y seguras, para que de manera profiláctica pueda proteger a la población susceptible. El reto que se tiene por delante ahora es llegar a toda la población, comenzando por la de mayor riesgo, de planes de vacunación que logren inmunizar la mayor cantidad de población posible, lo suficiente como para disminuir la tasa de incidencia y controlar la pandemia de COVID-19. El desarrollo de productos farmacológicos de uso profiláctico para proteger a los individuos susceptibles y evitar la infección todavía están en fase de investigación, hasta ahora ningún medicamento ha demostrado prevenir o curar esta enfermedad, sin embargo, hay varios ensayos clínicos en marcha (11,17,18).

La pandemia continúa expandiéndose alrededor del mundo, transformándose en unas de las más serias enfermedades o de mayor impacto en los servicios de salud pública, especialmente en los sistemas de atención médica en el último siglo. Después de haber convivido con este nuevo virus (SARS-CoV-2) primero en forma epidémica y luego pandémica, durante al menos 12 meses, hemos entendido que la epidemiología de la enfermedad que produce la COVID-19, a pesar de tener algunas características de transmisión similares a otras afecciones respiratorias tipo influenza, a través del contacto directo, tiene un período de incubación más largo, también tiene un espectro asintomática capaz de difundirla mucho más rápido en la población y sin lugar a dudas con una mayor letalidad. Además, se estima que su tasa (rata) reproductiva básica, más conocida como (RO) es de 3 a 6, lo que se traduce en que una persona infectada en general, puede contagiar entre 3 y 6 individuos, generando un amplio campo de propagación de la infección. Se ha estimado que la inmunidad de rebaño solo se establecería cuando entre el 60 y 70% de la población mundial se haya infectado, recuperado y adquirido inmunidad post-infecciosa.

La mejor estrategia de salud pública ante la COVID-19 debe ser fundamentada en la historia natural de la enfermedad al tratar de interrumpir la cadena de transmisión del virus, y al mismo tiempo disminuir el alto costo en vidas humanas, que busca en lo posible evitar la enfermedad, sus complicaciones, secuelas y muertes. Otros autores plantean que también hay que estudiar y medir el gran costo económico y social que debe ser considerados cuando se toman las medidas para interrumpir la cadena de transmisión del virus (19).

Muchas discusiones, planes, propuestas se han planteado para implementar diferentes estrategias de control, que algunas cuestionan desde los confinamientos generales, de la población, las que contemplan solo comunidades o grupos especiales, algunas de ellas muy polémicas que han sido descartadas bien sea por cuestiones políticas, éticas, económicas, sociales, hasta la inmunidad de rebaño (20,21).

Conocemos y sabemos con suficientes evidencias científicas el papel protector de las medidas conocidas como "no farmacológicas", como el distanciamiento social, el uso de mascarilla, higiene de las manos, las que resultan muy efectivas para prevenir la enfermedad. Otras actividades importantes incluyen: un diagnóstico precoz y rápido para tomar medidas de control como aislamiento de casos o cuarentena a los contactos, limitar o restringir las reuniones grupales, restringir la movilización humana, que debe incluir el despistaje o testeo de contactos en las comunidades (22).

La actividad o medida de intervención más efectiva sin lugar a dudas, es la vacunación, aunque todavía no sabemos a ciencia cierta cuál es su tiempo de protección, disponer de una vacuna eficaz y segura, sería la solución, pero no resuelve todo el problema. Hay quienes dicen que tan complicado como lograr esa molécula, es la aplicación de la misma a los susceptibles, tal vez fundamentados en que esas acciones o intervenciones en el pasado han logrado el control de muchas enfermedades infecciosas, en cualquiera de sus formas (brotes, epidemias, pandemias), aunque todos saben lo complicado de su logro al tratar de abarcar a grandes grupos poblacionales. Afortunadamente, ya existen varias vacunas disponibles, pero la logística económica, financiera para adquirirlas, enviar a los distintos países, almacenarlas, distribuirlas, aplicarlas, en sistemas de salud deteriorados, carentes de recursos materiales, humanos con personal adecuado, lo hacen un verdadero reto. Superar esas barreras, aumentarían la posibilidad de éxito para inmunizar a la población creando una altísima expectativa para

controlar la pandemia. Otro aspecto a considerar en este punto, es que la inmunización tiene dos grandes e indiscutibles vertientes que los hacen vitales, uno es la protección individual y el otro es la inmunidad de grupo, comunitario o de rebaño como mecanismo de interrumpir la diseminación, sin embargo, las estimaciones estadísticas sugieren que se deben vacunar al menos al 60 ó 70% de la población para conseguirla, cosa por demás difícil y sobre todo costosa (23). Describiremos a continuación varios aspectos relacionados con la Biología del SARS-CoV-2, su mecanismo de transmisibilidad, patogenicidad y respuesta inmune, cuyo conocimiento ha permitido el desarrollo de diversas pruebas diagnósticas y métodos eficientes para la detección rápida y temprana de la COVID-19.

Estructura viral y características antigénicas del SARS-COV-2

Durante las últimas dos décadas, tres nuevos Betacoronavirus, agentes etiológicos del síndrome respiratorio agudo severo (SARS)-CoV; del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS)-CoV y el SARS-CoV-2, que produce la COVID-19, han cruzado la barrera de las especies y han causado importantes brotes caracterizados por altas tasas de letalidad en seres humanos (24,25,26).

Los CoVs, son grandes virus envueltos con genoma de ARN de sentido positivo no segmentado que abarca aproximadamente 30 kilobases, lo que los convierte en virus con el genoma más grande conocido de todos virus de ARN. Al ser virus de ARN, los CoVs evolucionan fácilmente por mutación y recombinación homóloga y no homóloga, los que les permite expandir su rango de hospedadores y les facilita el cruce de barreras de especies. Tienen una variedad extensa de reservorios animales, especialmente entre murciélagos, y su plasticidad en términos de uso de receptores celulares hace que los CoVs sean altamente eficaces en el cambio de hospedero, a veces a través de amplias distancias taxonómicas (5).

De acuerdo a la estructura del genoma y análisis filogenéticos, la familia *Coronaviridae* puede ser dividida en cuatro géneros alfa y *betacoranovirus* que infectan solo a mamíferos, y los géneros gamma y delta *Coronavirus* que infectan tanto a mamíferos como a aves (27,28).

En los seres humanos, cuatro coronavirus, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 y HCoV-HKU1, generalmente causan infecciones del tracto respiratorio superior y prevalecen en todo el mundo (29). SARS-CoV-2 es un nuevo virus perteneciente a la familia *Coronaviridae* género *Coronavirus* y subgénero *Betacoronavirus*. Está compuesto por un genoma viral de ARN monocatenario de sentido positivo envuelto en forma de corona (þssRNA) de 30 killobases, que codifica para múltiples proteínas estructurales. La mayoría de los CoVs tienen de 8-10 marcos lecturas abiertas (ORFs). Los ORF1a y ORF1b en el extremo 5´ traducen para la poliproteína 1a (pp1a) y pp1ab, requerida para la replicación viral, seguido de los ORFs que codifican para la proteína de la superficie viral, espiga (S); envoltura viral (E); glicoproteína de membrana (M); nucleocápside (N) (30). (Figura 2)

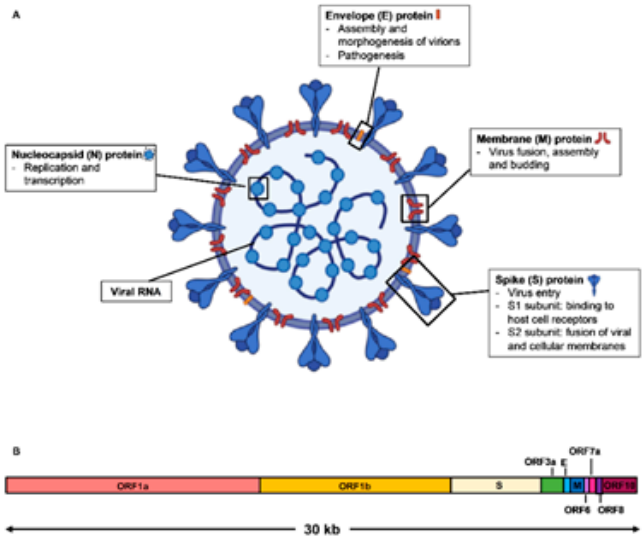


Figura 2. Diagrama esquemático de la estructura y organización genómica del virus SARS-CoV-2. (A) Las proteínas de la superficie viral, espiga (S), envoltura (E), y membrana (M) están insertadas en una bicapa lipídica. El ARN viral de cadena simple en sentido positivo está asociada con la proteína N de la nucleocápside. Diagrama creado por BioRender. (B) Organización genómica de SARS-CoV-2, la cual fue adaptada del GenBank, número de acceso: MN908947, está caracterizada por el alineamiento de secuencias contra dos miembros del género betacoronavirus. La secuencia completa del genoma tiene una longitud de 30 kilobases (kb). Tomado de: Lee CY- P, Lin RTP, Renia L and Ng LFP. Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. Front. Immunol. 2020; 11:879. doi: 10.3389/fimmu.2020.00879

Hacia la región 3´ se encuentran los genes que codifican para otras proteínas accesorias, tales como, la proteína hemaglutinina esterasa (HE), proteína 3, proteína 7a, entre otras (31). Estas proteínas interactúan entre sí para formar la envoltura viral, donde la proteína S sobresale de la envoltura viral por unión a la proteína M (32). En las partículas de coronavirus, la proteína N empaqueta el genoma viral formando una nucleocápside helicoidal (29).

a. Mecanismo de patogénesis de SARS-CoV-2.

La infección por SARS-CoV-2 se inicia por la unión de la proteína S a receptores presentes en la superficie de la célula huésped. El dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S es, por lo tanto, el principal objetivo de terapia y detección del SARS-CoV-2 (33, 34). Al igual que los otros *betacoronavirus*, el SARS-CoV-2 utiliza el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE 2) para ingresa a las células, mientras que MERS-CoV utiliza el receptor de la dipeptidilopeptidasa (DDP4) (35). Ambos receptores son ectoenzimas transmembrana que están altamente conservadas entre los mamíferos, facilitando así la transferencia entre especies (35). El receptor de SARS-CoV-2, ACE2, se expresa principalmente en un pequeño subconjunto de células del pulmón llamadas células alveolares tipo 2 (36).

Adicionalmente se ha observado la expresión de ACE2 en el epitelio intestinal, en células cardíacas y endotelio vascular, y en niveles más bajos en monocitos, macrófagos y linfocitos, lo cual puede proporcionar otras vías de entrada para el SARS-CoV-2 (5,37). La entrada viral, particularmente en las células epiteliales respiratorias, requiere la proteólisis de la proteína S, un proceso dependiente de la proteasa de serina transmembrana del hospedero, (TMPRSS2), la cual cliva la proteína S en dos subunidades funcionales S1 y S2, produciendo un cambio conformacional irreversible de la misma. La subunidad S1 es la parte involucrada en el reconocimiento y fusión con el receptor, y la S2 ancla la proteína facilitando la fusión y entrada del virus a la célula hospedadora (5,34,35).

La proteína S es determinante para el tropismo y patogenicidad del hospedador y es de gran interés en términos de respuesta inmunológica y diseño de vacunas, ya que induce la formación de anticuerpos neutralizantes como un importante mecanismo de defensa inmune (38).

Al entrar a las células, el ARN genómico (gARN) es usado como molde para para generar un intermediario de ARN de cadena negativa y traducir directamente la poliproteína pp1a y pp1ab, la cual es procesada en 16 proteínas no estructurales (NSP) por clivaje proteolítico. La mayoría de estas proteínas no estructurales están involucradas en la transcripción replicación de los coronavirus. El genoma viral también es utilizado para generar un intermediario para generar ARN subgenómicos, dependientes de la enzima ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp). Durante su replicación se producen 6-9 ARN mensajeros subgenómicos (sgmARN) que conducen a la traducción de las principales proteínas estructurales (S), (M), (E) y (N), y otras proteínas accesorias (33,40).

Los factores que desencadenan enfermedad grave y la muerte en la mayoría de las pacientes por COVID-19, no están totalmente definidos. En la gran mayoría de los pacientes, al inicio afecta principalmente las vías respiratorias, aunque puede afectar otros sistemas. Una excesiva respuesta inflamatoria al SARS-CoV-2 asociada con altos niveles de biomarcadores inflamatorias en sangre que incluyen, proteína C reactiva, ferritina, dímeros D, y citoquinas pro-inflamatorias circulantes, acompañadas de linfopenia y una sustancial infiltración células mononucleares en diversos tejidos, han sido considerados como una causa importante de la gravedad de enfermedad y la muerte de pacientes con COVID-19 (41).

b. Manifestaciones clínicas

Los principales síntomas comunes del COVID-19 son fiebre, cefalea, fatiga y síntomas respiratorios incluyendo tos, dolor de garganta y dificultad para respirar. A diferencia de pacientes infectados con SARS y MERS que presentaron diarrea en un 20-25% de los casos, en pacientes con COVID-19 ésta ha sido raramente reportada. Si bien se ha estimado que entre el 80-85% de las infecciones por SARS-CoV-2 tienen un curso clínico favorable, que pueden ser totalmente asintomáticos o mostrar síntomas respiratorios leves, el 15-20% restante de los pacientes infectados son críticamente afectados, que necesitan ventilación mecánica, subintensivo o incluso cuidados intensivos (42).

En este grupo se encuentran principalmente, pacientes de edad avanzada y con comorbilidades subyacentes, como enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, cáncer, trastornos pulmonares o enfermedad renal, entre otras, que pueden progresar de una forma clínica subaguda a una mayor dificultad respiratoria, SDRA, disfunción de la coagulación, y choque séptico (43).

A pesar del conocimiento y avances que se han logrado en cuanto a los aspectos biológicos y epidemiológicos del SARS-CoV-2, debido a que es un virus nuevo no existe inmunidad preexistente en la población humana. De allí que, identificar los mecanismos exactos que contribuyen a su patogenicidad son críticos para el desarrollo de estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento de la COVID-19. En esta perspectiva, es casi incuestionable que el diagnóstico de laboratorio como en otros tantos procesos infecciosos, juega un papel fundamental, tal y como se discutirá más adelante en este artículo.

c. Respuesta Inmune a la infección por SARS-CoV-2

El ingreso del SARS-CoV-2 en el organismo desencadena la activación de respuesta inmune innata y adquirida del individuo, que se expresará clínicamente de diversas formas. La respuesta inmune efectiva puede provocar la eliminación del virus y la generación memoria inmunitaria contra la infección. En los casos de pacientes con infección grave por SARS-CoV-2, el desbalance de la respuesta inmunitaria que induce la secreción de citoquinas de manera descontrolada favorece el reclutamiento de células inflamatorias a múltiples órganos, principalmente los pulmones, desencadenando el cuadro clínico severo de COVID-19 (44).

Como ya hemos mencionado anteriormente, el receptor putativo del SARS-CoV-2, el ACE2 está expresado principalmente en las células alveolares tipo 2. Una vez que el virus invade la célula diana o blanco, el sistema inmune innato detecta la infección y las proteínas virales son procesadas por células presentadoras de antígeno profesionales, como las células dendríticas y macrófagos. Este evento conduce a la activación de varias vías de señalización intracelular que rige la transcripción de factores nucleares como el factor nuclear NF- kB, proteína activadora (AP-1) y los factores reguladores de interferón 3 y 7. Estos inducen la expresión de genes que codifican para proteínas proinflamatorias tales como, factor de necrosis tumoral (TNF), interleuquinas 1, 6 y 12 (IL-1; Il-6 e IL-12) y quimioquinas (CCL-2 y CXCL8), moléculas importantes que son capaces de suprimir la replicación y diseminación viral en la etapas tempranas de la infección (45).

Por otra parte, el sistema inmune adaptativo se activa cuando los péptidos virales procesados son presentados en el contexto de las moléculas del complejo de histocompatibilidad de clase I y clase II a las T CD8+ y CD4+ respectivamente, para inducir la activación y expansión clonal de células efectoras específicas del virus y células T de memoria. En tanto a la producción de anticuerpos, las células B pueden activarse al reconocer el virus directamente y mediante mecanismo de cooperación celular con las células T CD4+. La seroconversión frente a la infección por el SARS-CoV-2, se inicia con la respuesta de anticuerpos de isotipo IgM, la cual se genera dentro de la primera semana después de los síntomas. Posteriormente, entre los 7-14 días después de la infección primaria, aparecen los anticuerpos de isotipo IgA e IgG los cuales permanecen por tiempo prolongado indicando exposición previa al virus (46).

Pruebas Diagnósticas de COVID-19

La rápida y progresiva propagación del virus SARS CoV-2 causante de la COVID-19 ha traído graves amenazas a la salud pública en todo el mundo (47). La creciente gravedad de esa situación podría estar relacionada con la escasez de pruebas efectivas en el punto de atención (POCT) para identificar de forma rápida y precisa a los pacientes infectados por el SARS-CoV-2.

Adicionalmente, los pacientes con infección asintomática y pre-asintomática de SARS-CoV-2, son altamente contagiosos y dada la falta de ensayos para la detección adecuada, muchos pacientes infectados con SARS-CoV-2 han tenido contacto con personas no infectadas antes de pudieran ser identificadas para aislamiento domiciliario u hospitalización (33). Por lo tanto, se necesita urgentemente pruebas rápidas, económicas y sencillas en los puntos de atención primaria. Un método para el aislamiento oportuno de casos y rastreo efectivo de contactos de potenciales infectados con SARS-CoV-2.

Existen dos principales tipos de pruebas disponibles para el diagnóstico de COVID19: las pruebas directas que detectan partículas virales y las indirectas basadas en la detección de anticuerpos específicos producidos contra las proteínas virales. Hasta ahora, numerosos grupos de investigación han publicado diferentes métodos para la detección del virus. Sin embargo, la sensibilidad y especificidad de esos métodos son muy diferentes. (48)

a.- Pruebas Diagnósticas- RT-qPCR

Uno de los métodos directos más utilizados es aquellos basados en la tecnología de detección de ácidos nucleicos del SARS-CoV-2. Según lo recomendado por

la OMS, la prueba de referencia o "gold standard" para diagnóstico de COVID-19 en muestras provenientes de pacientes con sintomatología compatible, es la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR), que detecta el ARN viral basado en la tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT). Es la prueba más sensible y fiable de los métodos disponibles (48).

Generalmente, los resultados se obtienen entre 2 y 4 horas. RT-qPCR muestra un mejor rendimiento que las pruebas serológicas porque puede identificar casos positivos en la etapa temprana de la infección, incluso durante el período de incubación de la enfermedad y después de los síntomas han desaparecido (49).

Varios blancos moleculares de esta prueba incluyen los genes que codifican para las proteínas de nucleocápside (N), envoltura (E), espiga (S) y la polimerasa dependiente de ARN (RdRp). La mayoría de las pruebas utilizan al menos dos secuencias blanco del genoma viral. Nalla y col., evaluaron el desempeño de unas de las primeras pruebas de RT-qPCR desarrolladas por investigadores del Hospital Charité de Alemania y del Centro del Control y Prevención de Enfermedades, (CDC) de Atlanta usando diferentes juegos de cebadores y sondas y un estuche de ensayo con muestras clínicas. En ese estudio se pudo demostrar una buena sensibilidad y especificidad para las pruebas que utilizaron cebadores para las regiones E y N, sin reactividad cruzada con otros virus que afectan las vías respiratorias (50,51,52).

Las determinaciones analíticas con RT-qPCR siempre deben ser realizadas por personal debidamente experimentado y entrenado, con equipamiento, reactivos especializados y una infraestructura de bioseguridad nivel II apropiada para hacer un procesamiento seguro y un diagnóstico rápido y confiable. Existen algunas consideraciones técnicas específicas que se deben tomar en cuenta al momento de realizar estas pruebas, ya que su omisión pudiera afectar la detección y los resultados de la misma. Aparte de ser una técnica costosa, que requiere laboratorios debidamente equipados, consume tiempo realizarla, ya que se producen resultados en 3-4 horas, pudiendo tomar más tiempo cuando las muestras deben enviarse a laboratorios externos especializados (6-8 horas promedio). Es por ello que uno de los aspectos más importantes, se refiere a la recolección de las muestras. Se ha reportado, que las tasas de resultados falso positivos y falsos negativos son relativamente altas debido a posibles errores en los procesos de muestreo y ejecución de las pruebas (48).

En ese sentido, se debe considerar el tipo de muestra y el método para la obtención de la misma, ya sea del tracto respiratorio superior o inferior, el tiempo de recolección de las muestras en relación con el curso de la infección y la disponibilidad de los diferentes reactivos y estuches de diagnóstico, que estén debidamente aprobados y autorizados por los entes encargados del control y registro sanitario de cada país (4).

Se pueden obtener resultados falsos negativos por diversas causas; por ejemplo: toma inadecuada de la muestra, por retraso en el transporte, condiciones inapropiadas de trasporte, y en algunos casos error en el etiquetado de la muestra a lo largo del proceso. La interpretación de la PCR se debe hacer con prudencia dentro del contexto clínico, sobre todo en caso de elevada sospecha clínica y un resultado negativo, en ese caso se recomienda repetir el estudio (53).

Hasta el presente, los centros para el control y prevención de enfermedades de (CDC), recomiendan obtener muestras del tracto respiratorio superior, preferiblemente mediante hisopados nasofaríngeos/ orofaríngeas en pacientes ambulatorios para las pruebas de SARS-CoV-2, preferiblemente al inicio de los síntomas. Cuando la obtención de esta muestra no es posible, las siguientes muestras del tracto respiratorio inferior aceptadas son: lavado broncoalveolar, esputo y/o aspirados endotraqueales, principalmente de pacientes que presenten cuadros clínicos con dificultad respiratoria. El virus también puede ser detectado en otras muestras como sangre y heces, sin embargo, son menos confiables que las muestras provenientes del tracto respiratorio (4).

Utilizando la técnica de RT- qPCR, se ha detectado ARN viral del SARS-CoV-2 tanto en muestras de hisopados nasales y nasofaríngeos de individuos infectados, que se vuelve casi indetectable a los 14 días después del inicio de los síntomas de la enfermedad (30).

b. Pruebas Serológicas - Detección de Anticuerpos

Al igual que en otros procesos infecciosos, las pruebas serológicas nos permiten evaluar la presencia de anticuerpos específicos durante el curso de la infección por SARS-CoV-2. Estas pruebas consisten en la identificación cualitativa y/o medición cuantitativa de diferentes clases de inmunoglobulinas, principalmente IgM, IgA e IgG contra proteínas del SARS-CoV-2, que permiten establecer, por una parte, si una persona ha estado en contacto con el virus y se encuentra en la fase aguda de la infección o si ha desarrollado inmunidad humoral de memoria por exposición previa al virus. (54)

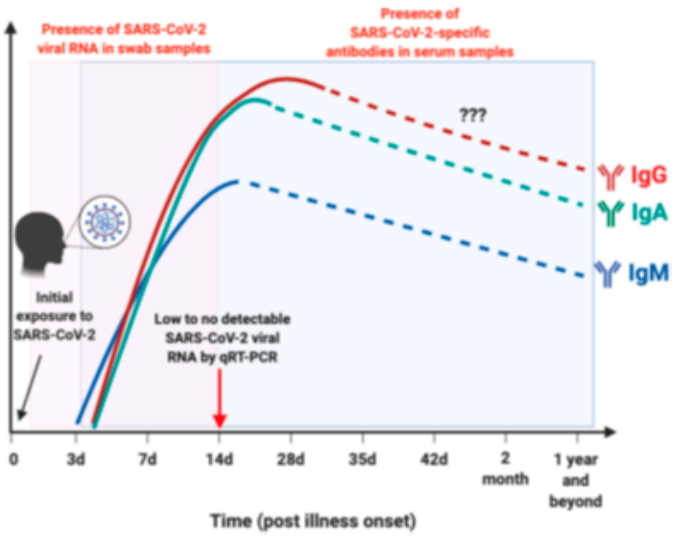


Figura 3. Ilustración esquemática del período de ventana para detección tanto de ARN viral o anticuerpos en individuos infectados por SARS- CoV-2. Presencia ARN viral se detecta en muestras de hisopados nasofaríngeos de pacientes infectados (letras rosadas) hasta el día 14 de la infección. Se muestran la respuesta de anticuerpos anti SARS-CoV-2 (recuadro letras azules). IgM es detectable a los 3 días de los síntomas, alcanzando un pico de detección entre las 2-3 semanas y permanece detectable hasta después de 1 mes. Tanto IgA e IgG aparecen el día 4 de la infección y alcanzan un punto máximo a los 14 días, pudiendo detectarse después de más allá de dos meses. Ilustración creada usando BioRender Tomado de: Lee CY- P, Lin RTP, Renia L and Ng LFP. Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control.Front. Immunol. 2020; 11:879. doi: 10.3389/fimmu.2020.00879

En el contexto de la COVID-19, los inmunoensayos serológicos comprenden la identificación, mediante ensayos cualitativos y/o medición con pruebas cuantitativas de diferentes clases de anticuerpos que pueden proporcionar información tanto, sobre infecciones virales activas como sobre exposiciones pasada. Hasta la fecha, muchas empresas comerciales e institutos de investigación han desarrollado ensayos serológicos para detectar anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en muestras de suero o plasma de pacientes.

Las pruebas serológicas son muy útiles en circunstancias donde se obtienen resultados negativos para RT-qPCR y existe un fuerte vínculo epidemiológico con la infección por SARS-CoV-2. En esos casos las muestras de suero recolectadas en la fase aguda y convaleciente pueden ser de valor diagnóstico (49).

La mayoría de las pruebas detectan la unión de las inmunoglobulinas IgG y/o IgM a antígenos virales fijados en un soporte sólido. La prueba más ampliamente utilizada es la de inmunoensayo absorbente ligado a enzimas (ELISA). Las pruebas ELISA permiten procesar un gran número de muestras en paralelo, con gran sensibilidad y especificidad. En la mayoría de los ELISA los anticuerpos presentes en una muestra problema se unirán a un solo antígeno que se fija al soporte sólido. De manera alternativa, actualmente se han diseñado pruebas multiplexadas, que permiten detectar la unión de las inmunoglobulinas a varios antígenos en un solo pozo, tubo o esfera de reacción. Otros ensayos para evaluar la respuesta de anticuerpos en primera línea, se realizan por técnicas de quimioluminiscencia, y ensayos de inmunocromatografía o de flujo lateral. La mayoría de estas pruebas se basan en la detección de anticuerpos dirigidos principalmente contra las proteínas más inmunogénicas del coronavirus: la proteína S, que es la proteína viral más expuesta al sistema inmune y la proteína N, que se expresa abundantemente durante la infección. Además, el dominio de unión al receptor (RBD), que se encuentra a lo largo de la proteína S, también es un objetivo de interés para detectar la presencia de anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2 (55).

Se han desarrollado muchas pruebas basados en la técnica de ELISA para evaluar la respuesta de anticuerpos IgA, IgM, e IgG contra SARS-CoV-2. La presencia de anticuerpos IgM específicos contra SARS-COV-2 pueden ser detectados durante la fase sintomática de la COVID-19 y permite la identificación de una infección reciente. Por ejemplo, se ha demostrado que la IgM puede ser detectada después de los 5 días del inicio de los síntomas, mientras que la respuesta IgG aparece en promedio a los 14 días en el curso de la infección. Algunos investigadores han reportado que la detección de IgM junto con una prueba positiva de RT-qPCR, aumenta la tasa de detección positiva en un 98% en comparación al 52% obtenido con una única prueba de PCR (56).

También, se ha reportado que la seroconversión para IgM e IgG ocurre simultáneamente o secuencialmente, en un promedio de 13 días. En tanto que, la IgG alcanzaría su máxima expresión (100%), aproximadamente el día 19 después del inicio de los síntomas (49) (Figura 3).

Otras de las pruebas, que han sido aprobados y autorizados para su uso en la situación de emergencia debido a la pandemia de COVID-19, son las pruebas rápidas de flujo lateral que mencionamos anteriormente

y se basan en la técnica de inmunocromatografía coloidal para detectar anticuerpos contra SARS-CoV-2 (57).

Estas pruebas se fundamentan en la detección de anticuerpos IgM o IgG utilizando dispositivos que contienen tiras de nitrocelulosa donde se fijan las proteínas del virus. La interpretación de los resultados depende del isotipo de anticuerpo detectado. La aparición de líneas para IgG o IgM, o ambas, indica una muestra positiva y, por lo tanto, que el paciente ha sido infectado con el coronavirus COVID-19. Los ensayos diseñados para detectar de manera simultánea anticuerpos IgM e IgG, son los que han demostrado mejor desempeño en términos de rendimiento y sensibilidad diagnóstica en comparación a los que detectan un solo anticuerpo, ya sea IgM o IgG. Estas pruebas ofrecen la ventaja que se pueden realizar en los sitios de atención primaria, obteniendo los resultados en pocos minutos. Una de las limitaciones que se han reportado en estos ensayos es la reactividad cruzada que pueden tener los anticuerpos frente a otros coronavirus. Por lo tanto, los resultados deben ser interpretados en el contexto clínico y epidemiológico particular.

Dada la importancia de las pruebas serológicas para complementar el diagnóstico de COVID-19, es de especial interés tomar en cuenta la baja especificidad de algunos ensayos y la alta posibilidad de resultados falsos positivos. Esto puede tener consecuencias importantes para el diagnóstico y vigilancia epidemiológica tanto a nivel individual como poblacional. A nivel individual, un resultado falso positivo le estaría ofreciendo a las personas que nunca se han infectado, la posibilidad de considerarse inmunes a la infección por SARS-CoV-2 y de poder circular libremente descuidando las medidas de prevención y aislamiento. A nivel de población, los resultados falsos positivos pueden aumentar la prevalencia de la COVID-19 y proporcionan una imagen distorsionada del estado inmune de la población y una tasa de mortalidad más baja que la que suceda realmente, lo que puede afectar negativamente a los estudios de vigilancia epidemiológica (49). Así también es importante considerar los resultados falso negativos. Varios estudios han evaluado la sensibilidad clínica de las pruebas comerciales de flujo lateral para detectar simultáneamente anticuerpos IgM e IgG en muestras de pacientes que han sido diagnosticados con COVID-19 por pruebas de RT-qPCR, demostrando que esta puede variar considerablemente, dependiendo del momento en que se tomen las muestras. Pan y cols., reportaron que la sensibilidad del ensayo fue de 11.1% en los primeros días de la infección (1-7 días), 92,9% en pacientes de estadio intermedio (8-14 días) y 96,8% en los de estadio tardío (más de 15 días) (58). En otro estudio, Tang y cols, compararon el desempeño de dos pruebas comerciales serológicas, utilizando 103 muestras de pacientes con infección por SARS-CoV-2 confirmada por RT-qPCR y 153 controles sanos tomadas en diferentes días después de iniciados los síntomas (<3; 3-7; 8-13; y > 14 días). En ambas pruebas observaron una baja sensibilidad diagnóstica durante los primeros 14 días de los síntomas, generando un alto porcentaje de resultados falsos negativo (59). Así vemos, como la sensibilidad de las diferentes pruebas cambia en el transcurso de la infección. Por lo tanto, es necesario tener estrictos controles de calidad y validación de las diferentes pruebas serológicas para COVID-19 utilizando muestras de diferentes etapas de la enfermedad que aporten resultados importantes para el diagnóstico y seroprevalencia de la infección.

c. Pruebas diagnósticas para detección de Antígenos mediante inmunoensayos rápidos

La detección temprana del SARS-CoV-2 es una de las medidas cruciales para controlar propagación y diseminación del virus. La creciente expansión del número de contagios a nivel mundial podría estar relacionada con la escasez de pruebas efectivas en el punto de atención primaria para identificar de forma rápida y precisa a los pacientes infectados con este virus (33).

Los individuos que permanecen asintomáticas o tienen síntomas leves, definen una población que no se somete a pruebas detección en el momento de la infección aguda, y son potencialmente contagiosos. De manera que, es fundamental emplear ensayos inmunológicos para contribuir al diagnóstico y manejo de la enfermedad individual, así como para ayudar en la vigilancia epidemiológica de personas con exposición previa al SARS-CoV-2.

Hemos destacado, la prueba de RT-qPCR, como el estándar de referencia para confirmar la infección viral y el diagnóstico de COVID-19. No obstante, debido al gran número de pacientes y contactos relacionados, que deben ser evaluados, la capacidad del laboratorio para realizar la prueba de PCR de manera oportuna, es una limitación importante para la aplicación de las medidas adecuadas de contención en los casos positivos. Por lo tanto, la implementación de nuevos inmunoensayos para detectar directamente proteínas antigénicas del SARS-CoV-2, en muestras de secreciones nasofaríngeas es una necesidad apremiante para establecer oportunamente el diagnóstico (49, 60, 61).

La introducción reciente de nuevas pruebas diagnósticas como la prueba de detección de antígenos, más fiable ahora que al inicio de la pandemia, ha hecho que se amplíe el número de herramientas disponibles para la detección de infecciones por SARS-CoV-2. Las llamadas pruebas rápidas de detección de antígeno (PRD-Ag), se fundamentan en detección directa de las proteínas virales por método inmunocromatográfico de flujo lateral para aplicarlas en los sitios de atención primaria. Aunque las PDR-Ag, son en principio menos sensibles que las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, como la PCR, se han diseñado y validado varios estuches de diagnóstico que ofrecen la posibilidad de una detección rápida, económica y temprana de proteínas virales en muestras clínicas de pacientes con sospecha clínica de COVID-19 (49).

El panorama del desarrollo de pruebas diagnósticas es dinámico: hay casi un centenar de empresas que están diseñando o fabricando PRD-Ag del SARS-CoV-2 (62). En el caso de las PDR-Ag del SARS-CoV-2, con frecuencia el antígeno blanco que se desea detectar es la proteína de la nucleocápside (N) del virus, preferencia que se explica por su relativa y abundante producción durante la fase aguda de la infección. Previos estudios han mostrado que la proteína N es la proteína viral predominante en grandes cantidades, en el suero, aspirado nasofaríngeo, muestras de lavado de garganta, heces y orina durante el período inicial de la infección (33).

Tras obtener la muestra del tracto respiratorio y aplicarla en el dispositivo de la prueba. Si el antígeno está presente en concentraciones suficientes, se unirá a anticuerpos específicos de SARS-CoV-2 fijados en una membrana en la zona de prueba, generando una señal visible detectable entre 10 y 30 minutos con o sin ayuda de instrumento lector (63). Las proteínas virales se pueden detectar cuando el virus se replica activamente, por lo tanto, estas pruebas están diseñadas para identificar infecciones agudas o tempranas.

En general, la facilidad de uso de las PDR-Ag y la rapidez con que se obtiene el resultado ofrecen la posibilidad de ampliar el acceso a las pruebas y reducir las demoras en el diagnóstico, ya que permiten pasar a hacerles pruebas descentralizadas a los pacientes con síntomas incipientes.

Diversos estudios han evaluado y comparado el rendimiento de las pruebas para la detección rápida de SARS-CoV-2 en nuestras respiratorias con la PCR. Dichos datos muestran que, comparada con la de las pruebas moleculares, la sensibilidad en muestras de las vías respiratorias altas (hisopos nasales o nasofaríngeos) es muy variable, que alcanzan en promedio hasta un 94%, y la especificidad es constantemente alta (>97%) dentro de los primeros días de iniciados los síntomas.

En ese sentido, Porte y cols., analizaron un total de 127 muestras utilizaron una prueba rápida inmunocromatográfica. La mayoría de las muestras se tomaron durante la fase inicial de la enfermedad, con una duración media de los síntomas de 2 días. La sensibilidad y especificidad general de la prueba fueron en promedio de 93,9% y 100% respectivamente al comparar con la PCR (64). Sin embargo, otros estudios han reportado que las pruebas rápidas son capaces de detectar la proteína N del virus en diversas muestras respiratorias con menor sensibilidad que la PCR (68%) pero con muy alta especificidad (100%) (65, 66). Aunque se necesitan más datos sobre el rendimiento en la vida real y los aspectos prácticos, lo más probable es que las PDR-Ag ofrezcan un buen desempeño en los pacientes con cargas víricas elevadas (valores del umbral de ciclos ≤25 o >106 copias del genoma vírico/ml), que suelen aparecer en las fases presintomáticas (entre 1 y 3 días antes de la aparición de los síntomas) y en las fases sintomáticas iniciales de la enfermedad (en los primeros 5 a 7 días de esta (67, 68).

Se considera que es más conveniente ampliar la realización de pruebas con miras a una posible disminución de la transmisión utilizando PDR-Ag que dejar de realizar pruebas o que las que se apliquen no sean de provecho para orientar las medidas de control de la infección, ya sea por la tardanza en obtener los resultados o por el riesgo de negativos falsos en los pacientes con cargas virales bajas (63). Dentro de las ventajas que ofrecen estas pruebas podemos mencionar: a) en muestras respiratorias tomadas dentro de los primeros 5-7 días después del inicio de los síntomas, generalmente se requieren menos de 30 minutos para dar un resultado; b) pueden ser utilizadas directamente en puntos de atención (primer nivel de atención; se pueden realizar con poco o sin ningún equipamiento adicional; d) poseen una muy adecuada especificidad y; e) se pueden ofrecer para hacer estudios de prevalencia de la infección en poblaciones que viven en lugares de difícil acceso a centros de diagnóstico con uso de técnicas moleculares, contribuyendo a la interrupción comunitaria mediante el aislamiento de casos diagnosticados.

Dentro de las desventajas, un resultado no reactivo (negativo) no permite descartar la infección por virus

SARS-CoV-2, por lo tanto, los resultados deben ser verificados por pruebas moleculares como la RT-qPCR.

d. Recomendaciones generales para el uso de PDR-Ag del SARS-CoV-2

1. Las pruebas de PDR-Ag que cumplen con los requisitos mínimos de rendimiento de ≥80% de sensibilidad y ≥97% especificidad en comparación con la PCR, pueden ser utilizados para diagnosticar la infección por SARS-CoV-2 en una variedad de entornos donde las pruebas moleculares no están disponibles o donde se prolongan los tiempos de respuesta para un diagnóstico clínico.
2. Entre los escenarios apropiados para utilizar las PDR-Ag del SARS-CoV-2 se incluyen los siguientes:
   i) Responder a presuntos brotes de COVID-19 en lugares remotos, instituciones y comunidades donde las pruebas moleculares son de difícil acceso.
   ii) Para apoyar investigaciones de brotes en grupos cerrados o semi-cerrados como, por ejemplo: escuelas, residencias geriátricas, prisiones, lugares de trabajo, cruceros etc.
   iii) Monitorear la incidencia de la enfermedad en las comunidades, particularmente en lugares de trabajadores esenciales y de la salud durante los brotes o en regiones de transmisión generalizada donde el valor predictivo positivo y negativo de una PDR-Ag es suficiente para permitir un control efectivo de la infección y seguimiento de contactos (69).
   iv) Despistaje de la infección por SARS-CoV-2 en los contactos asintomáticos, aun cuando las PDR –Ag no están específicamente autorizadas para tal fin, ya que se ha demostrado que los casos asintomáticos tienen cargas virales similares a los casos sintomáticos. (70). En estos casos un resultado negativo de la PDR-Ag no debe excluir un contacto de los requisitos de la cuarentena

Vigilancia Epidemiológica y medidas de control

La vigilancia epidemiológica, es la observación continua y permanente de los factores que condicionan la frecuencia y la distribución, así como las tendencias de las enfermedades en las poblaciones humanas, mediante la recolección sistemática, la consolidación, tabulación, análisis de los datos de morbilidad y mortalidad, composición y distribución de la población, sus actividades económicas y sociales, relación con el medio ambiente, así como de otros elementos relevantes (71). Esta información básica luego de analizada, permite caracterizar epidemiológicamente la COVID-19 en sus variables tiempo, lugar y persona, permite darnos los perfiles de la enfermedad de la población a nivel nacional, regional, distrital y local; así como los recursos disponibles para poder enfrentarlo. De igual manera, debe ponerse énfasis en la vigilancia de riesgos y procesos determinantes en la difusión de la enfermedad, en la presentación clínica y los recursos disponibles para atender y resolver en vez de restringirse solo a la evaluación de daños (72).

Debe conformarse un Sistema, articulado a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, cuyo objetivo fundamental es la prevención y control de las enfermedades. Para ello realiza actividades que pretenden: detectar y analizar los problemas de salud y las situaciones de riesgo y difundir la información y recomendaciones necesarias que faciliten la aplicación de medidas de control individuales y colectivas.

Todo caso sospechoso de COVID-19 debe ser tratado como una alerta sanitaria y por tanto, comunicado de manera urgente al Servicio de Epidemiología local y distrital y de ahí a toda la red, para iniciar la investigación y búsqueda activa de casos y aplicación de las medidas de control como aislamiento de los casos y cuarentena de los contactos. Así también, aplicar las medidas que a nivel comunitario sean necesarias aplicar, como restricciones de actividades educativas, laborales y sociales que pudieran influir o estar afectada en la transmisión de la enfermedad. De igual manera incrementar las medidas de prevención reconocidas como el uso de mascarilla, lavado frecuente de manos, distanciamiento físico, evitar los sitios cerrados y las aglomeraciones de personas, así como aplicar medidas especiales a los grupos de riesgo, como el personal de salud en general. Cuando tengamos acceso a la vacuna se deben implementar programas efectivos de vacunación a la población, comenzando por los grupos de alto riesgo de enfermar, transmitir o de complicarse y de vacunación de bloqueo ante la aparición de brotes. Asimismo, al disponer de medicamentos antivirales efectivos, se permitirá tratar a los enfermos para que dejen de ser fuente de infección y la quimioprofilaxis de los contactos para que no desarrollen la infección. El uso de pruebas masivas de diagnóstico adecuadas y uso de tecnología como seguimiento y georeferencia, forma parte de la vigilancia epidemiológica (73).

El equipo local de salud debe estar capacitado para emprender la vigilancia epidemiológica y la aplicación oportuna de medidas de control, por cuanto es el más cercano al problema y debe manejar mejor las estrategias de abordaje y de participación social para que sean efectivas las acciones. Puede detectar en la forma más precoz y rápida, cualquier cambio que se presente en la evolución de una enfermedad o afección y/o en los factores condicionantes y determinantes, tanto en el agente, el huésped o en el medio ambiente, para determinar las medidas adecuadas de control y prevención (74).

Un aspecto importante para la vigilancia epidemiológica corresponde al diagnóstico etiológico de la enfermedad, la prueba rápida de antígeno contra la COVID-19 como ya se describió anteriormente, se fundamenta en la detección de algunas proteínas del virus, en muestra de fluidos de nasofaringe y tal vez lo más importante, es que los resultados están disponibles pocos minutos. Son pruebas rápidas y muy económicas, y tal vez su mejor atributo es que se puede utilizar en grandes comunidades o personas que habitan lugares de difícil acceso (75).

En Epidemiología y Salud Pública requerimos medidas de control que prevengan la transmisión comunitaria; pruebas que sean rápidas, precisas, económicas y asequibles para determinar cuándo alguien ha sido infectado con el virus; y poder romper el mecanismo de transmisión, bien sea observando a los contactos y sospechosos durante el máximo período de incubación (denominado cuarentena), y así se transforma en la primera ventaja de los test rápidos, que permiten instaurar: el aislamientos de los casos, la cuarentena precoz, igualmente permite un sondeo mejor, más rápido y amplio en las poblaciones (76,77).

En la fase infecciosa la carga viral suele ser muy alta, y tanto la PCR como los test de antígenos, son capaces de detectar el virus. La ventaja de las pruebas de antígenos es que en pocos minutos podemos tener resultados en individuos con sintomatología compatible. El saber esto permite aislar a los positivos y a sus contactos o relacionados con mayor precisión y rapidez. La principal y más grande fortaleza de estas pruebas es muy evidente y clara: "La rapidez es el mayor beneficio de los test de antígenos". En la transmisión comunitaria es vital e importante que queramos conocer es si un paciente es contagioso. Otro aspecto a considerar, que escapa al objetivo de esta revisión es identificar o encontrar nuevas moléculas, drogas o medicamentos para ayudar a mejorar a los pacientes y, sobre todo poder disponer una vacuna segura y eficaz a la brevedad posible, para aplicar a la población creando la inmunidad de grupo o colectiva, también denominada de "rebaño", para prevenirla eficientemente.

Conclusiones y Recomendaciones

La prueba de referencia diagnostica para la enfermedad COVID-19 sigue siendo la RT-qPCR, sin embargo, la dinámica de la transmisión y su alta difusión en las comunidades, nos impone alternativas diagnósticas más rápidas, económicas y de alta confiabilidad para detectar proteínas virales, con alta sensibilidad y especificidad para identificar casos activos, así como personas pre -sintomáticas. Por lo tanto, se hace imperativo considerar realizar las PDR-Ag ya que no requieren de costosos equipos, de grandes infraestructuras ni de recursos humanos muy especializados. Su aplicación en comunidades y/o pacientes con síntomas clínicos compatibles, expuestos al SARS-CoV-2 previamente, permitirían la detección temprana de los casos de infección aguda.

Recomendamos y sugerimos evaluar la posibilidad de hacer estas pruebas en forma cada vez más rutinarias, que sin dudas será de gran valor para la toma de decisiones clínicas individuales y del enfoque comunitario de salud pública que ayudaran a identificar, evaluar a los casos y contactos, sospechosos, asociados, agregados de los entornos comunitarios y familiares de manera más precoz y real.

Referencias

1. Rodríguez-Morales AJ, Sánchez-Duque JA, Hernández Botero S, Pérez-Díaz CE, Villamil-Gómez WE, Méndez CA, *et al*. Preparación y control de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) en América Latina. Acta Med Peru. 2020;37(1):3-7 doi: 10.35663/amp.2020.371.909
2. ECDC. [página web en Internet]. Pandemia de covid-19. Disponible en: https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19-pandemic
3. Comisión Presidencial para el Control del Covid-19, https://covid19.patria.org.ve/
4. La Marca A, Capuzzo M , Paglia T, Rol L, Trenti T, Nelson S. Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. RBMO. 2020;41(3):483-499
5. Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM. COVID-19: Immunology and treatment options. Clin Immunol. 2020;215:108448. doi: 10.1016/j.clim.2020.108448
6. Wuhan seafood market pneumonia virus isolate

Wuhan-Hu-1, complete genome. [Internet]. [Revisado 23 de enero de 2020; citado 7 de octubre de 2020] Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN908947.3

7. Novel Coronavirus (2019-nCoV) situation reports [Internet]. [citado 23 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus 2019/situation-reports
8. Ministerio de Sanidad. [página web en Internet]. Enfermedad por coronavirus, COVID-19. [Internet]. 2020 [citado 28 de agosto de 2020]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/ITCoronavirus.pdf
9. ECDC. [página web en Internet]. Epidemiologia del covid-19. [citado 15 de noviembre de 2020]. Disponible en https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/epidemiology
10. ECDC. [página web en Internet]. Preguntas y respuestas sobre covid-19. [citado 25 de noviembre de 2020]. Disponible en https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/questions-answers
11. Organización Mundial para la Salud (OMS). [página web en Internet]. Preguntas y respuestas sobre la enfermedad por coronavirus (COVID-19). [citado 14 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/es/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public/q-a-coronaviruses
12. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020;579:265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
13. Munster VJ, Koopmans M, van Doremalen N, van Riel D, de Wit E. A novel coronavirus emerging in China. Key questions for impact assessment. N Engl J Med. 2020;382(8):692-694. doi: 10.1056/NEJMp2000929
14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). [página web en Internet]. Enfermedad del coronavirus 2019, Covid-19, como se propaga el covId-19. [citado 28 de noviembre de 2020]. Disponible en https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covidspreads.html
15. Morawska L, Milton D. It Is Time to Address Airborne Transmission of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020;71(9):2311-2313. [citado el 20 de diciembre de 2020]. Disponible en: doi: 10.1093/cid/ciaa939
16. Lewis D. Coronavirus in the air. Nature. 2020;583:510-513. [Consultado el 25 de diciembre de 2020] Disponible en: https://media.nature.com/original/magazine-assets/d41586-020-02058-1/d41586-020-02058-1.pdf
17. D´Suze C, Echezuria L, Rísquez A, Gazzotti L, Fernández M. Epidemiologia del Covid-19. Consenso Venezolano sobre manifestaciones sistémicas del Covid-19, Arch Venez Puer Ped. 2020;83(Sup3):2-14. [citado el 20 de noviembre de 2020]. Disponible en: http://www.svpediatria.org/repositorio/publicaciones/2020/SUP_AVPP%2083-10.pdf
18. Control de la Enfermedades en la Población. En: Castillo-Salgado C, Mujica O, Loyola E, Canela J (editores). Principios de Epidemiologia para el Control de Enfermedades. 2da Edición OPS. Washington DC; 2001, pp 5-35. Disponible en: https://www.paho.org/col/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=publicaciones-ops-oms-colombia&alias=858-mopece6&Itemid=688
19. Vizcaíno G, Esparza J. Perspectivas de los dilemas éticos relacionados con la pandemia Covid-19. Invest Clin. 2020;61(4):393-405. doi: 10.22209/IC.v61n4a07
20. Kulldorff M, Gupta S, Bhattacharya J. The Great Barrington declaration. [citado el 12 de octubre de 2020]. Disponible en: https://gbdeclaration.org/The Great Barrington Declaration and Its Critics – AIER
21. Alwan NA, Burguess RA, Beale R, Bhadella N, Bogaert D, Dowd J, *et al.* Scientific consensus on the COVID pandemic: we need to act now. Lancet. 2020;396:e71-e72. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32153-X
22. Belfort J, Enria D, Giesecke J, Heymann DL, Ihekweazu C, Kobinger G, *et al.* WHO Strategic and Technical Advisory Group for Infectious Hazards. Living with the COVID-19 pandemic: act now with the tools we have. Lancet. 2020;396(10259):1314-1316. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32117-6
23. Bartsch SM, O'Shea KJ, Ferguson MC, Bottazzi ME, Wedlock PT, Strych U, *et al.* Vaccine efficacy needed for a COVID-19 coronavirus vaccine to prevent or stop an epidemic as the sole intervention. Am J Prev Med. 2020;59(4):493-503. doi: 10.1016/j.amepre.2020.06.011
24. Drosten C, Gunther S, Preiser W, Van Der Werf S, Brodt HR, Becker S, *et al.* Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. N Engl J Med. 2003;348(20):1967-1976. doi: 10.1056/NEJMoa030747
25. Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier R A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. N Engl J Med 2012:367(19):1814-1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721
26. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020;579(7798):265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
27. Drexler JF, Corman VM, Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. Antivir Res. 2014;101:45-56. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.10.013
28. Anthony SJ, Johnson CK, Greig DJ, Kramer S, Che X, Wells H, *et al.* Global patterns in coronavirus diversity. Virus Evol. 2017;3(1):vex012. doi: 10.1093/ve/vex012
29. Masters PS. Coronavirus genomic RNA packaging. Virology. 2019;537:198-207. doi: 10.1016/j.virol.2019.08.031
30. Lee CY, Lin RTP, Renia L, Ng LFP. Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. Front Immunol.

2020;11:879. doi: 10.3389/fimmu.2020.00879

31. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, *et al.* Coronavirus infections and immune responses. J Med Virol. 2020;92(4):424-432. doi: 10.1002/jmv.25685
32. Schoeman D, Fielding B C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. Virol J 2019;16(1):69 doi: 10.1186/s12985-019-1182-0
33. Ji T, Liu Z, Wang G, Guo X, Akbar khan S, Lai Ch, *et al.* Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives. Biosens Bioelectron. 2020; 166:112455. doi: 10.1016/j.bios.2020.112455
34. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, *et al.* SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. Cell. 2020;181(2):271-280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052
35. Tortorici MA, Veesler D. Structural insights into coronavirus entry. Adv Virus Res. 2019;105:93-116. doi: 10.1016/bs.aivir.2019.08.002.
36. Prompetchara E, Ketloy Ch, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. Asian Pac J Allergy Immunol. 2020;38:1-9. doi: 10.12932/AP-200220-0772
37. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, *et al.* High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. Int J Oral Sci. 2020;12(1);8. doi: 10.1038/s41368-020-0074-x
38. Hulswit RA, de Haan CA, Bosch BJ. Coronavirus Spike Protein and Tropism Changes. Adv Virus Res. 2016;96:29-57. doi: 10.1016/bs.aivir.2016.08.004
39. Ji T, Liu Z, Wang G, Guo X, Akbar Khan S, Lai C, *et al.* Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives. Biosens Bioelectron. 2020; 166:112455. doi: 10.1016/j.bios.2020.112455.
40. Chan JF, Kok K, Zhu Z, Chu H, To KK Yuan S, Yuen KY. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. Emerg Microb Infect. 2020;9(1):221-236. doi: 10.1080/22221751.2020.1719902
41. Merad M and Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. Nat Rev Immunol. 2020;20:335-362. doi: 10.1038/s41577-020-0331-4
42. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
43. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, *et al.* Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single centered, retrospective, observational study. Lancet Respir Med. 2020;8(5):475-481. doi: 10.1016/ S2213-2600(20)30079-5.
44. Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD, *et al.* The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. J Neuroimmune Pharmacol. 2020;15:359-386. doi: 10.1007/s11481-020-09944-5.
45. Rokni M, Ghasemi V, Tavakoli Z. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. Rev Med Virol. 2020;30(3):e2107. doi: 10.1002/rmv.2107
46. Azkur A, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brüggen M, *et al.* Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. Allergy. 2020;75(7):1564-1581. doi: 10.1111/all.14364
47. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, *et al.* Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. JAMA. 2020;323(18):1843–1844. doi: 10.1001/jama.2020.3786
48. Li Chun and Ren Linzhu. Recent progress on the diagnosis of 2019 Novel Coronavirus. Transbound Emerg Dis. 2020;67(4):1485-1491. doi: 10.1111/tbed.13620
49. da Silva S, da Silva C, Guarines KM, Germano R, Mendes R, Pardee K, *et al.* Clinical and Laboratory Diagnosis of SARS-CoV-2, the Virus Causing COVID-19 ACS Infect Dis. 2020;6(9):2319-2336. doi: 10.1021/acsinfecdis.0c00274
50. Corman V, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu D, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020; 25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045
51. CDC. [página web en Internet]. 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time rRTPCR Panel Primers and Probes; 2020. [citado el 27 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html
52. Nalla A, Casto A, Huang W, Perchetti G. A, Sampoleo R, Shrestha L, Wei Y, *et al.* Comparative Performance of SARS-CoV-2 DetectionAssays using Seven Different Primer/Probe Sets and One Assay Kit. J Clin Microbiol. 2020;58(6):e00557-20. doi: 10.1128/JCM.00557-20
53. Gestoso L, Garcia Y, Gonzalez P, Mzarrero J. Recomendaciones y uso de los diferentes tipos de test para detección de infección por SARS-COV-2. Enferm Clin. 2020. doi. 10.1016/j.enfcli.2020.10.001O
54. Lippi G, Mattiuzzi C, Bovo Ch, Plebani M. Current laboratory diagnostics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) Acta Biomed. 2020;91(2):137-145. doi: 10.23750/abm.v91i2.9548
55. Tang YW, Schmitz J, Persing D, Stratton C. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. J Clin Microbiol. 2020;58(6):e00512-20. doi: 10.1128/JCM.00512-20
56. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang YF, Cruz C, *et al.* Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020;71(15):778-785. doi: 10.1093/cid/ciaa310
57. FDA. [página web en Internet]. Emergency Use Authorizations for Medical Devices. [citado el 14 de

diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.fda.gov/medicaldevices/emergency-situations-medical-devices/emergency-useauthorizations

58. Pan Y, Li X, Yang G, Fan J, Tang Y, Zhao J, *et al.* Serological Immunochromatographic approach in diagnosis withSARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. J Infect. 2020;81(1):e28-e32. doi: 10.1101/2020.03.13.20035428
59. Tang M, Hock K, Logsdon N, Hayes J, Gronowski A, Anderson N, *et al.* Clinical Performance of Two SARS-CoV-2 Serologic Assays. Clin Chem. 2020;66(8):1055-1062. doi: 10.1093/clinchem/hvaa120
60. WHO (World Health Organisation). [página web en Internet]. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19. Interim guidance. 2020. [citado el 20 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331509/WHO-COVID-19-lab_testing-2020.1-eng.pdf, 2020c
61. Lee CY, Lin RTP, Renia L, Ng LFP. Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. Front Immunol. 2020;11:879. doi: 10.3389/fimmu.2020.00879
62. Foundation for Innovative New Diagnostics. [página web en Internet]. SARS-CoV-2 Diagnostic Pipeline. 2020 [citado el 29 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/..
63. OMS. [página web en Internet]. Detección de antígenos para el diagnóstico de la infección por el SARS-CoV-2 mediante inmunoanálisis rápidos: Orientaciones provisionales, 11 de septiembre 2020
64. Porte L, Legarraga P, Vollrath V, Aguilera X, Munita J, Araos R, *et al.* Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. Int J Infect Dis. 2020;99:328-333. doi: 10.1016/j.ijid.2020.05.098.
65. Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C, *et al.* Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. medRxiv. 2020:2020.03.07.20032524. doi: 10.1101/2020.03.07.20032524
66. Mak G, Cheng P, Lau S, Wong K, Lau C, Lam E, *et al.* Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. J Clin Virol. 2020;129,104500. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104500.
67. Arons M, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, *et al.* Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. N Engl J Med. 2020;382(22):2081-2090. doi: 10.1056/NEJMoa2008457
68. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, *et al.* Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2020(8):CD013705. doi: 10.1002/14651858.CD013705.
69. U.S. Food & Drug Administration. In Vitro Diagnostics EUAs 2020 [citado el 30 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/vitro-diagnostics-euas.
70. Lee S, Kim T, Lee E, Lee C, Kim H, Rhee H, *et al.* Clinical Course and Molecular Viral Shedding Among Asymptomatic and Symptomatic Patients With SARS-CoV-2 Infection in a Community Treatment Center in the Republic of Korea. JAMA Intern Med. 2020;180(11):1447-1452. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.3862
71. OPS. Enseñanza y práctica de la epidemiología en Venezuela, Relato General de la Primera Reunión Nacional sobre la Enseñanza y Práctica de la Epidemiología en Venezuela, celebrada en Caracas, Venezuela, del I al 3 de diciembre de 1985
72. León R, Echezuria-Marval L, Vigilancia Epidemiológica en: Echezuria-Marval l, Fernández-Silano M, Risque-Parra A, Rodríguez-Morales A. editores. Temas de epidemiologia y Salud Pública. Primera Edición. Caracas: Ediciones de la Biblioteca, EBUC, Universidad Central de Venezuela. Caracas 2013, pp. 217-243.
73. OPS. Oficina Sanitaria Panamericana. [página web en Internet]. Oficina Regional de la Organización Mundial para la Salud. Módulos de principios de EPIDEMIOLOGÍA para el control de enfermedades. Unidad 6. Medidas de Control. Washington; 2001
74. OPS. Oficina Sanitaria Panamericana. [página web en Internet]. Oficina Regional de la Organización Mundial para la Salud. Módulos de principios de EPIDEMIOLOGÍA para el control de enfermedades. Unidad 4. Vigilancia en Salud Publica. Washington; 2001
75. Mazariegos-Herrera CJ, Ozaeta-Gordillo CM, Menéndez-Veras RA, Conde-Pereira César R. El papel de las pruebas diagnósticas en el manejo de la pandemia COVID-19: un enfoque desde el laboratorio clínico. Ciencia, Tecnología y Salud. Vol. 7, núm. 3 Dirección General de Investigación. Universidad de San Carlos de Guatemala.
76. David L. Heymann. Editor. El control de las enfermedades transmisibles. Informe oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. Publicación Científica y Técnica No. 613 ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. [Internet]. Decimoctava edición. Washington DC; 2005.
77. OPS/OMS. Nuevas pruebas rápidas de antígenos podrían transformar la respuesta a COVID-19 en las Américas. OPS. [Internet]. Washington D.C; 2020, Disponible en: https://www.paho.org/es/noticias/14-10-2020-nuevas-pruebas-rapidas-antigenos-podrian-transformar-respuesta-covid-19

POTENCIALES OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA INFECCIONES POR SARS-CoV 1 Y 2

Juan Bautista De Sanctis,[1,2] Dolores Moreno,[3] Alexis García,[2] Gricelis Martínez,[2,4] Michael Mijares.[2,4]

[1]Instituto de Medicina Molecular y Tanslacional. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Palacky. Hněvotínská 1333/5. Olomouc 779 00. República Checa. [2]Instituto de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela. [3]Cátedra de Patología General y Fisiopatología. Escuela Luis Razetti. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela. [4]Unidad de Biotecnología, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.

Recibido para publicación 18 Diciembre 2020. Aceptado 30 Diciembre 2020.

RESUMEN:
En los últimos veinte años, se han descubierto tres variantes de coronavirus que infectan al humano. La característica clínica más notoria es el síndrome severo de insuficiencia respiratoria, denominado SARS en inglés. A pesar de los numerosos esfuerzos realizados para generar una terapia efectiva, hasta el momento no se ha logrado ninguna de alta eficiencia. Las nuevas vacunas son la esperanza para controlar la presente pandemia. En la presente revisión abordaremos cómo se realizan los estudios, los tratamientos postulados, el porqué de las respuestas obtenidas y los posibles candidatos terapéuticos a usar en pacientes infectados.

Palabras clave: Terapia farmacológica, SARS-CoV-1, SARS-CoV-2.

POTENTIAL THERAPEUTIC OPTIONS FOR SARS-CoV 1 AND 2 INFECTIONS

SUMMARY
In the last twenty years, three variants of coronaviruses have been discovered to infect humans. The most prominent clinical feature is severe respiratory failure syndrome, called SARS in English. Despite the numerous efforts made to generate an effective therapy, none of high efficiency has been achieved so far. The new vaccines are the hope to control the present pandemic. In this review we will address how the studies are carried out, the postulated treatments, the reasons for the responses obtained, and the possible therapeutic candidates to use in infected patients.

Keywords: Pharmacologic therapy, SARS-CoV-1, SARS-CoV-2.

Introducción

Estructura básica del virus

Los coronavirus (CoV) son virus de ARN monocatenarios con una envoltura característica de estructuras en forma de espícula. La familia *Coronaviridiae* está formada por cuatro subfamilias Alphacoronavirus (αCoV), Betacoronavirus (βCoV), Deltacoronavirus (δCoV) y Gammacoronavirus (γCoV). Se sabe que un total de 7 CoV infectan a los seres humanos, consisten en dos alfa CoV (HCoV-229E y HKU-NL63) y cinco beta CoV (HCoVOC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, SARS-CoV-2 y MERS-CoV) (1).

Los CoV humanos han estado circulando durante mucho tiempo infectando a los humanos. Las infecciones por coronavirus, caracterizadas por síntomas similares a los de la gripe común, a menudo se observan en la estación fría (1). Se consideraba como una infección viral benigna. Sin embargo, esta definición cambió en 2002-2003 debido a que hubo un brote, en China, de coronavirus que causó un síndrome respiratorio agudo severo. El virus se denominó entonces SARS-CoV. El virus fue altamente contagioso, 8000 casos confirmados, con una tasa de letalidad del 9,6% (2). El rápido control epidemiológico evitó la propagación del virus. Luego, hubo otro brote, esta vez en países de Medio Oriente en 2012, y Corea del Sur en 2015. Los casos confirmados de MERS-CoV superaron los 2.000, con una tasa de letalidad de ~ 35% (1-3). En el año 2019, se produjo el brote real de SARS-CoV-2 que pertenece a la misma familia (1).

El genoma del coronavirus está formado por 2 sitios UTR, 5 ′ y 3 ′, la replicasa, la espiga (S), la envoltura E (Envolvente), la M (Membrana), la N (Nucleocápside)

Solicitar copia a: : Dr. Juan B. De Sanctis (sanctisj@gmail.com)

y la cola de poli (A). Hay genes adicionales al final del genoma. La proteína S está altamente glicosilada y es necesaria para la infección (4). Aunque la proteína S es muy similar entre el SARS 1 y 2 (94% de secuencia de nucleótidos), hay un sitio sensible a proteasas en el SARS-CoV-2 que está ausente en el anterior (4). La proteína de membrana y las proteínas accesorias no son esenciales para la replicación; sin embargo, tienen papeles esenciales en el ensamblaje y patogénesis viral. Hay otros genes no estructurales, las proteínas del marco abierto (ORF), ORF1ab, ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF10 y ORF8 que también se transcriben (5). La función de estas proteínas en la infección, la replicación viral y la respuesta del hospedador aún son controvertidas.

El SARS-CoV-2 utiliza el receptor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE2), una proteína transmembranal glicosilada, para infectar e invadir la célula diana (6). La máxima expresión de ACE2 se observa en el epitelio respiratorio, pulmones, riñones, intestinos, endotelio y corazón (7, 9). La unidad S del virus se une a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor diana (10).

Principios microbiológicos y cultivos virales

En los años recientes, a través de biología molecular, se han logrado realizar importantes avances en términos de identificación de agentes patógenos y con la validación de los síntomas establecidos se ha podido avanzar rápidamente en la identificación de terapias que permitan contralar la enfermedad infecciosa. Sin embargo, estos procesos requieren, a la par, información relevante de estudios *in vitro* e *in vivo*. Para poder referenciar terapias que actúen a nivel del genoma o replicación del agente patógeno es imprescindible contar con cultivos permisivos. Los cultivos permisivos son aquellos que permiten la replicación del agente patógeno en ausencia de señales celulares o medios externos, anticuerpos, complemento, etc. Hay varias líneas celulares que se usan para cultivos permisivos, la más conocida para estudios virales son las células Vero y Caco-2 (11). Las células Vero son células de riñón de mono (*Cercopithecus aethiops*), aisladas de un mono sano en 1962 por los doctores Y. Yasumura y Y. Kawakita, fáciles de mantener, con ciclo de replicación entre 18 y 24h y susceptibles a infecciones virales, malaria, hongos etc. Las células Vero clonadas tienen ausente el segmento de producción y respuesta a interferón (IFN) (11). Las células Caco-2 son células provenientes de un carcinoma epitelial de colon humano obtenidas de un paciente por el Dr. Jorgen Fogh en 1977. A diferencia de las células Vero esta línea celular es tumoral, menos permisiva. Es utilizada para análisis de fármacos, transporte de moléculas etc. Las células Caco-2 si responden a IFN en cultivo, de allí su menor permisividad (12). Los experimentos con células permisivas permiten obtener cantidades importantes de agente patógeno, más experimentos *in vitro* deben ser analizados con cautela dada la condición de la célula hospedera.

En el caso de SARS-CoV-2, con la información molecular previa de otros coronavirus fue posible identificar, purificar y secuenciar el virus en corto tiempo. La secuencia molecular, sin embargo, necesitó ser amplificada para poder secuenciarse de forma fidedigna. Varios grupos de investigadores decidieron crecer el virus en el medio permisivo celular para posteriormente secuenciarlo. Esa técnica de amplificación permitió inclusive obtener, de varios pacientes, cultivos virales y comparar las secuencias. Las secuencias, posteriormente fueron claves para diseñar los iniciadores para la reacción de cadena de polimerasa (PCR), técnica crítica para la determinación del virus.

Cuando se intentó establecer líneas infectadas con SARS-CoV-2, cultivo primario, células tumorales o inmortalizadas, el rendimiento fue muy pobre. La dificultad radica, en gran parte, en la señalización de IFN mas no es el único elemento. Ese tropiezo, ha forzado a utilizar líneas permisivas para experimentos farmacológicos, los cuales, no necesariamente se traducen en el proceso que ocurre *in vivo*. Es así como se ha evidenciado que, usando cultivos permisivos, el virus es más eficiente en el proceso de replicación y es capaz de inhibir los procesos celulares a través de los miRNA, ARN no codificantes que se acoplan a segmentos de ARN y causan su destrucción. Los procesos miRNA en infecciones por SARS-CoV-2 ha sido revisado recientemente (13).

El proceso de replicación viral en ambiente permisivo genera varios problemas desde el punto de vista farmacológico. Un primer problema a pensar es la biodisponibilidad del fármaco. La biodisponibilidad de fármacos antiretrovirales *in vivo* difiere mucho la de la de *in vitro* en muchos casos el producto metabólico del fármaco es el terapéutico y no el fármaco per se (14). A la par, muchos fármacos antivirales son capaces de inhibir parcialmente procesos celulares y están relacionados con múltiples efectos adversos

(14). La resistencia farmacológica es poco visible en cultivos permisivos *in vitro* a diferencia de *in vivo*. En los estudios realizados con diferentes fármacos antivirales, Remdesivir, el inhibidor de la replicación viral más potente *in vitro*, demostró en varios ensayos una disminución en el tiempo de convalecencia y una disminución pequeña de la mortalidad (3-5 %) en pacientes con la COVID-19. Sin embargo, esas tasas siguen siendo bajas en comparación al número de pacientes con infección viral importante que requieren terapia ventilatoria (15, 16).

Los estudios *in vitro* y sus limitaciones se puede observar en los trabajos de Gendrot y col. (17) y Hoffmann y col (18). En el trabajo de Hoffmann, se logra demostrar que el efecto de cloroquina *in vitro* con células permisivas no puede ser replicado en células no permisivas. En el modelo animal controlado de hámster tampoco la cloroquina tuvo efecto (19). Ambos trabajos (18, 19) apoyan la mayoría de los reportes de estudios clínicos donde se evidencia la ausencia de efecto terapéutico del antimalárico (19). El mismo problema se encontró con el uso de ivermectina donde las dosis necesarias para inhibir la replicación viral eran 35 veces más altas de las dosis terapéuticas (20). Sin embargo, el mayor inconveniente que se ha observado en Latinoamérica es el uso indiscriminado de terapias como ivermectina y con combinaciones farmacológicas que pudieran ser más tóxicas que terapéuticas (21, 22).

Independientemente del uso de vacunas, es necesario disponer de un arsenal terapéutico racional para tratar a los pacientes ya que es imposible vacunar a toda la población al mismo tiempo y existe la posibilidad de focos de infección hasta ahora no controlarlos. En la presente revisión abordaremos algunos de los tratamientos postulados como posibles candidatos terapéuticos para tratar infecciones por SARS-CoV-1 y 2.

Opciones terapéuticas farmacológicas

Una respuesta inmune adecuada del huésped a la infección por virus requiere que el huésped sea capaz de contener la propagación del virus y eventualmente eliminarlo. Cuando el sistema inmunológico no puede eliminar el virus del cuerpo, la respuesta inmunológica se modula en la mayoría de los casos utilizando diferentes fármacos para reducir la carga viral y prevenir el desarrollo de la enfermedad (23, 24).

Esteroides

Los glucocorticoides son inhibidores potentes que se utilizan habitualmente para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias y crónicas. Los efectos antiinflamatorios e inmunosupresores de los glucocorticoides dependen de varios mecanismos moleculares (25). Russel y col. (26), en un estudio observacional retrospectivo de pacientes con MERS, demostró que los pacientes tratados con corticosteroides generalmente requerían ventilación mecánica, vasopresores y terapia de reemplazo renal. Tras correcciones estadísticas, los autores concluyeron que el tratamiento con corticoesteroides no se asoció con disminución de la mortalidad. La guía de la OMS sobre el manejo clínico de la infección respiratoria aguda grave (publicada el 28 de enero de 2020) recomienda no usar corticosteroides a menos que esté indicado por otras razones médicas (27). En la actualidad se recomienda el uso de esteroides en casos de COVID-19 con necesidad de oxigenoterapia, cánula nasal de alto flujo, ventilación no invasiva y ventilación invasiva (28).

Cloroquina (CQ) o hidroxicloroquina (HCQ)

La cloroquina (CQ), el fosfato de cloroquina (FCQ) y la hidroxicloroquina (HCQ) inhiben la infección viral en varios modelos (29). Pueden inhibir la replicación de los virus de ARN y actualmente no están recomendados para tratar la infección por COVID-19 (29,30). Son bases débiles e inhiben la acidificación endosomal (31,32). Mauthe y colaboradores (33) demostraron que CQ inhibe la autofagia al alterar la fusión del autofagosoma con los lisosomas. Además, la CQ induce una desorganización independiente de la autofagia de los sistemas de Golgi y endolisosómico, lo que podría contribuir al deterioro de la fusión (33). La cloroquina puede reducir la glicosilación de ACE2, evitando así que el virus se una de manera efectiva a las células huésped (30). Savarino y col. (29) sugirieron que la CQ podría bloquear la producción de citocinas proinflamatorias (como IL-6), disminuir la tormenta de citocinas y, por lo tanto, prevenir la vía de activación que conduce al síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA).

En China, se realizaron estudios de cohorte en 10 hospitales para verificar la eficacia y seguridad de CQ y HCQ en el tratamiento de la COVID-19 (30). Los resultados iniciales mostraron que el fosfato de cloroquina era superior al control. El fosfato de cloroquina redujo las exacerbaciones pulmonares,

mejoró los hallazgos radiológicos y disminuyó la carga viral (30). Sin embargo, ha habido algunos desacuerdos con el uso de la cloroquina basados en la baja respuesta de los pacientes y los efectos secundarios observados, principalmente cardiovasculares (34). En la actualidad la CQ y la HCQ no está indicado para el tratamiento de la COVID-19.

Azitromicina

Los macrólidos son un tipo de antibióticos derivados de *Saccharopolyspora erythraea*, un tipo de bacteria del suelo. Afecta a cocos grampositivos y patógenos intracelulares como micoplasma, *clamidia* y *legionella*. Inhibe la síntesis de proteínas y se une, reversiblemente, al sitio P de la unidad 50S del ribosoma (35). La eritromicina fue el primer macrólido descubierto; otros macrólidos incluyen azitromicina, claritromicina y roxitromicina. Su efecto es principalmente bacteriostático, pero puede ser bactericida y antiinflamatorio (35). El efecto antiinflamatorio del antibiótico implicó: 1) la reducción de la migración y secreción de neutrófilos, 2) la regulación a la baja de las citocinas proinflamatorias de transcripción y secreción y 3) la disminución de la expresión de moléculas de adhesión (36).

Gautret y col. (37), evaluaron el uso de hidroxicloroquina y azitromicina en cargas virales respiratorias. Los pacientes tratados tuvieron una reducción significativa del transporte viral al sexto día después de la inclusión en comparación con los controles. La azitromicina agregada a la hidroxicloroquina fue significativamente más eficiente para la eliminación del virus (37). Estos resultados preliminares sugirieron un efecto sinérgico de la combinación de hidroxicloroquina y azitromicina (37). Aunque estos resultados fueron prometedores, el estudio tuvo varias limitaciones importantes: un tamaño de muestra pequeño, la falta de cargas virales basales y seguimiento, y la falta de aprobación ética. Además, no se informaron resultados de seguridad clínica. Estas limitaciones, junto con las preocupaciones sobre la cardiotoxicidad aditiva de estos dos fármacos, no respaldaron el uso de esta combinación en el esquema de tratamiento para COVID-19.

Tocilizumab

La interleucina-6 es una de las citocinas más relevantes durante las infecciones virales, junto con la IL-1 y el TNFα (38). Sin embargo, la sobreexpresión de IL-6 tiene consecuencias potencialmente negativas sobre la respuesta inmunitaria viral (38). La última evidencia científica respalda diferentes escenarios. La desproporción en la producción de IL-6 después de una infección viral puede afectar el aclaramiento viral, promoviendo la persistencia viral y enfermedades crónicas (38).

Tocilizumab (TCZ) es un anticuerpo monoclonal humanizado contra el receptor de IL-6 (39). El tocilizumab intravenoso se administra como una dosis única de 8 mg / kg iv en pacientes afectados por neumonía intersticial multifocal grave correlacionada con la infección por SARS-CoV-2 (39). El ensayo de fase clínica II evalúa la hipótesis de que un tratamiento anti-IL6R puede ser eficaz para apaciguar la tormenta de citocinas inducida por virus, bloquear el deterioro de la función pulmonar o incluso ayudar a una rápida mejora de las condiciones clínicas, previniendo la intubación nasotraqueal y / o la muerte (39). La FDA aprobó un ensayo clínico de fase III aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo para evaluar la seguridad y eficacia del tocilizumab intravenoso (IV) más el tratamiento estándar en pacientes adultos hospitalizados con neumonía grave (COVID-19) (40). Recientemente, Moore y June (41), en un editorial explicaron los efectos del tocilizumab en el tratamiento de pacientes graves. Los monocitos, macrófagos y células dendríticas se infectan con el virus que induce leucopenia. A su vez, existe la tormenta de citocinas y la activación de inflamasomas , que se puede prevenir bloqueando la señal de IL-6. La inhibición de IL-6R posee una ventaja sobre el bloqueo de IL-6 ya que el receptor bloquea explícitamente la señal que induce la tormenta de citoquinas. El fundamento es similar al informado para la artritis y la leucemia.

Remdesivir

Remdesivir (GS-5734) es un fármaco en investigación que tiene un amplio espectro antiviral (42). El fármaco ha mostrado actividad contra los virus de ARN de varias familias, incluidos los *Coronaviridae* (como el SARS-CoV, el MERS-CoV y las cepas de coronavirus de murciélago capaces de infectar las células epiteliales respiratorias humanas). El compuesto es un profármaco análogo de la adenosina, metabolizado en un nucleósido trifosfato activo (NTP) que posteriormente se une a las cadenas de ARN viral provocando su terminación prematura (42). Varios estudios han examinado los efectos del remdesivir sobre los coronavirus (CoV) tanto *in vitro* como *in vivo* utilizando modelos animales de ratones y primates no humanos (43, 44).

Grein y col (43), administraron remdesivir sobre la base de uso compasivo a pacientes hospitalizados con COVID19 severo. Los pacientes recibieron un ciclo de remdesivir de 10 días, que consistió en 200 mg administrados por vía intravenosa el primer día, seguidos de 100 mg diarios durante el resto de los días (43). De los 53 pacientes estudiados, nueve estaban en Japón y 22 en los Estados Unidos, 22 en Europa o Canadá (43). Desafortunadamente, no se recopilaron datos de carga viral para confirmar los efectos antivirales del remdesivir (43). Los resultados de este estudio están restringidos debido a: el tamaño pequeño de la cohorte, la falta de un grupo de control aleatorizado, la corta duración del seguimiento, los datos incompletos debido a la naturaleza del programa y la falta de información sobre 8 de los pacientes inicialmente tratados.

Wang y col. (44), demostraron que la combinación de remdesivir y cloroquina pudiera ser eficaz para controlar la infección por SARS-CoV-2 *in vitro*. Este grupo de investigadores sugiere que esta combinación debería evaluarse en estudios clínicos.

Inhibidores de la Janus Kinase

Las señales de la quinasa Janus (JAK) y STAT están involucradas en la señalización de citocinas y mecanismos celulares esenciales como la proliferación, invasión, supervivencia, inflamación e inmunidad (45). Los inhibidores potentes y selectivos de la vía JAK / STAT, baricitinib, fedratinib y ruxolitinib, se utilizan para el tratamiento de enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide. Los tres son potentes antiinflamatorios y es probable que sean efectivos contra las consecuencias deletéreas de los niveles elevados de citocinas que se observan típicamente en personas con COVID-19. El baricitinib es el mejor de este grupo. Tiene una alta afinidad por AAK1 y se toma por vía oral una vez al día (46).

Sin embargo, se han planteado preocupaciones con respecto al mecanismo de acción de este fármaco y su perfil de seguridad. El bloqueo de la vía JAK-STAT por baricitinib puede causar un deterioro de la respuesta antiviral mediada por interferón, facilitando así la persistencia del SARS-CoV-2 en el cuerpo (47). El panel de los Institutos Nacionales de Salud en sus pautas de tratamiento publicadas el 22 de abril de 2020, no recomienda el uso de inhibidores de la quinasa Janus en pacientes con COVID-19 debido a su extenso efecto inmunosupresor (48).

Plasma de pacientes convalecientes

El plasma de pacientes recuperados, es decir, la administración pasiva de anticuerpos policlonales (Ab) para proporcionar inmunidad inmediata, se ha utilizado para mejorar la tasa de supervivencia de pacientes con síndromes respiratorios agudos graves de etiología viral (49). Desafortunadamente, estos estudios no se han controlado adecuadamente.

Shen y su equipo (50) evaluaron cinco pacientes (rango de edad, 36-73 años; 2 mujeres) que fueron tratados con suero de pacientes convalecientes. Los cinco pacientes habían recibido varios agentes antivirales y esteroides (50). Se administró plasma de convalecencia a los pacientes entre 10 y 22 días después del ingreso, lo que produjo una mejoría en el estado clínico de los pacientes (50). Sin embargo, el tamaño limitado de la muestra y el diseño del estudio no permite una conclusión definitiva sobre la eficacia potencial de este tratamiento. Son necesarios más estudios clínicos.

Zhang y col (51) trataron a cuatro pacientes con cuidados de soporte y plasma de convalecientes. Aunque los cuatro pacientes (incluida una mujer embarazada) se recuperaron de la infección por SARS-CoV-2; se requieren más ensayos clínicos aleatorizados para eliminar el efecto de otros tratamientos recibidos por estos pacientes y para investigar la seguridad y eficacia de la terapia con plasma en sujetos convalecientes.

Anticuerpos Monoclonales

Los anticuerpos neutralizantes específicos contra el SARS-CoV-2 pueden ser obtenidos de dos maneras, a partir de pacientes que se recuperan de la enfermedad o en el laboratorio a través de diversas técnicas biotecnológicas (52,53). En diversos modelos preclínicos en animales de experimentación infectados con el SARS-CoV-2, los anticuerpos neutralizantes dirigidos contra la proteína S, o más específicamente contra el dominio RBD de la proteína S, han demostrado que esta estrategia de inmunización pasiva es capaz de reducir de forma significativa las cargas virales y el proceso inflamatorio en las vías respiratorias superiores e inferiores (54).

A la fecha han sido aprobadas dos terapias de mAB para el tratamiento de pacientes con la COVID-19, y un total de 66 investigaciones se encuentran en ensayos clínicos de fase 1/2/3, lo que incluye 17 estudios clínicos de anticuerpos dirigidos contra la proteína S (55).

Vacunas candidatas

La pandemia COVID-19 está ejerciendo una presión extrema para acelerar los pasos necesarios en el proceso de investigación y desarrollo de una vacuna contra el SARS-CoV-2. Diferentes entidades, públicas y privadas, se han apresurado a desarrollar una vacuna. Estos esfuerzos requerirán nuevos estándares de desarrollo de vacunas. Nuevas fases que se pueden realizar en paralelo y que pueden adaptarse rápidamente para ajustarse a nuevos requisitos, capacidad de fabricación a gran escala y nuevos procesos regulatorios innovadores que pueden monitorear e interrumpir el estudio en cualquier momento.

A principios de junio de 2020, la OMS informó que había 125 vacunas candidatas en la fase preclínica y diez vacunas candidatas en la etapa clínica (56, 57), actualizado el 21 de julio de 2020. Se están utilizando múltiples estrategias para la investigación y el desarrollo de vacunas. Las estrategias son:

1) Métodos tradicionales. Las vacunas se preparan aislando el agente infeccioso de los pacientes y atenuándolo o inactivándolo. La razón es tener una respuesta inmune similar a la infección natural. El principal problema es la generación de respuestas a serotipos específicos del virus y la generación de efectos secundarios desde la inflamación local hasta la recombinación viral remota. Las vacunas atenuadas no son adecuadas para pacientes inmunodeficientes, ancianos y mujeres embarazadas, principalmente la población de alto riesgo (58).

2) Uso de plataformas biotecnológicas, genómicas y proteómicas. Estos incluyen la producción del inmunógeno usando subunidades de ADN recombinante, vectores recombinantes, péptidos sintéticos, plásmidos y microARN.

En ambos casos, los adyuvantes y los sistemas de administración son los actores clave del éxito de la vacuna, promoviendo una respuesta inmune específica (58, 59). Como se mencionó anteriormente, la gran cantidad de epítopes y la baja cantidad de anticuerpos neutralizantes presentan un desafío en el diseño de vacunas. Las vacunas que utilizan biotecnología parecen más adecuadas para alcanzar la respuesta protectora deseada.

El desarrollo de la vacuna SARS-CoV-2 plantea desafíos importantes. La proteína del virus pico es el inmunógeno de elección y el diseño del antígeno es la clave para garantizar una respuesta inmune óptima (60,61). Para esta pandemia, es posible que las vacunas no lleguen a tiempo para mitigar el impacto de las primeras oleadas. Sin embargo, podrían ser útiles para nuevas oleadas de infecciones; Es probable que el SARS-CoV-2 continúe circulando como un virus estacional. Se requerirán estudios clínicos y serológicos para confirmar qué poblaciones continúan en riesgo una vez que las vacunas estén disponibles. Debemos desarrollar vacunas candidatas más prometedoras y almacenarlas para futuros brotes (62).

ACE2 soluble y otros tratamientos

Esta estrategia terapéutica ya fue evaluada con éxito en el caso de la infección por el SARS-CoV, y se fundamenta en la administración de una forma soluble de la ACE2 que se una al SARS-CoV-2 y que además module los efectos perjudiciales de la angiotensina II en el tratamiento de pacientes con la COVID-19. La rhsACE2 se comporta como receptor señuelo al unirse a la proteína S del SARS-CoV-1 y SARS-CoV-2, impidiendo de esta forma la entrada del virus a las células que expresan los receptores ACE2 y en consecuencia la infección, replicación viral y el daño a nivel pulmonar en animales de experimentación (63). Sin embargo, estas formas solubles de la ACE2 presentan una vida media corta, lo que conlleva a una menor utilidad terapéutica. Diversas estrategias farmacológicas han sido desarrolladas para la producción de formas terapéuticas de la rhsACE2 más estables, las cuales han mostrado que ejercen su acción de forma adecuada en ratones, y protegen a los animales de la infección e inflamación pulmonar, disminuyendo la falla multiorgánica y la muerte de los animales (64).

Recientemente, Treon y col. (65) demostraron que en un pequeño grupo de pacientes con macroglobulinemia de Waldenstrom, tratados con ibutrinib en dosis altas e infectados con SARS-CoV-2, pudieron recuperarse bien después de los síntomas iniciales. Este informe sugiere que los inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton podrían ayudar a la respuesta inmune innata contra el virus, especialmente porque modula la función de los macrófagos (66). Se requiere más investigación para determinar el papel de estos tratamientos.

Conclusiones

Entre las posibles opciones terapéuticas para las infecciones virales por SARS-CoV 1 y 2 tenemos tratamientos antivirales, antinflamatorios, inmunoterapia y vacunas entre otros. Actualmente no

existen medicamentos antivirales aprobados para el tratamiento de la COVID-19, el uso de los esteroides esta indicado en los pacientes con hipoxemia; mientras se está a la espera de la vacunación masiva como estrategia que limite las formas graves de la enfermedad. Si bien, se han realizado avances importantes en la determinación de potenciales alternativas terapéuticas farmacológicas, se necesitan ensayos controlados aleatorizados para determinar la seguridad y la eficacia de los medicamentos para el tratamiento de pacientes con COVID-19. En consecuencia, es fundamental que los profesionales de la salud se mantengan actualizados sobre las posibles opciones terapéuticas que se encuentran bajo investigación.

Referencias

1. Artika IM, Dewantari AK, Wiyatno A. Molecular biology of coronaviruses: current knowledge. Heliyon. 2020;6(8):e04743. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04743
2. Gralinski LE, Baric RS. Molecular Pathology of Emerging Coronavirus Infections. J Pathol. 2015;235(2):185-195. doi: 10.1002/path.4454
3. Zhou M, Zhang X, Qu J. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a clinical update. Front Med. 2020;14(2)126-135. doi: 10.1007/s11684-020-0767-8
4. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. J Microbiol Immunol Infect. 2020;S1684-1182(20)30082-7. doi: 10.1016/j.jmii.2020.03.022
5. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. J Med Virol. 2020,92(4):418–423. doi: 10.1002/jmv.25681
6. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, *et al.* Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. Nature. 2020;581(7807):221-224. doi: 10.1038/s41586-020-2179-y.
7. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, *et al.* High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. Int J Oral Sci. 2020;12:8. doi: 10.1038/s41368-020-0074-x.
8. Tikellis C, Thomas MC. Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) Is a Key Modulator of the Renin Angiotensin System in Health and Disease. Int J Pept. 2012;2012:256294. doi:10.1155/2012/256294.
9. Roca-Ho H, Riera M, Palau V, Pascual J, Soler MJ. Characterisation of ACE and ACE2 Expression within Different Organs of the NOD Mouse. Int J Mol Sci. 2017;18(3):563. doi:10.3390/ijms18030563.
10. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. Cell. 2020;181(2):281–292. doi:10.1016/j.cell.2020.02.058.
11. Emeny JM, Morgan MJ. Regulation of the interferon system: evidence that Vero cells have a genetic defect in interferon production. J Gen Virol. 1979;43(1):247-252. doi: 10.1099/0022-1317-43-1-247
12. Hakim MS, Chen S, Ding S, Yin Y, Ikram A, Ma XX, *et al.* Basal interferon signaling and therapeutic use of interferons in controlling rotavirus infection in human intestinal cells and organoids. Sci Rep. 2018;8(1):8341. doi: 10.1038/s41598-018-26784-9
13. De Sanctis JB, García A, Garmendia J, Moreno D, Hajduch M, Radzioch D. Importance of miRNA in SARS-CoV2 infection. Gac Med Caracas. 2020:128(Suppl 1):S17-S22.
14. Dionne B. Key Principles of Antiretroviral Pharmacology. Infect Dis Clin North Am. 2019;33(3):787-805. doi: 10.1016/j.idc.2019.05.006
15. Pimentel J, Laurie C, Cockcroft A, Andersson N. Clinical studies assessing the efficacy, effectiveness, and safety of remdesivir in management of COVID-19: a scoping review. Br J Clin Pharmacol. 2020;10.1111/bcp.14677. doi:10.1111/bcp.14677.
16. Hashemian SM, Farhadi T, Velayati AA. A Review on Remdesivir: A Possible Promising Agent for the Treatment of COVID-19. Drug Des Devel Ther. 2020;14:3215-3222. doi: 10.2147/DDDT.S261154
17. Gendrot M, Andreani J, Boxberger M, Jardot P, Fonta I, Le Bideau M, *et al.* Antimalarial drugs inhibit the replication of SARS-CoV-2: An *in vitro* evaluation. Travel Med Infect Dis. 2020;37:101873. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101873
18. Hoffmann M, Mösbauer K, Hofmann-Winkler H, Kaul A, Kleine-Weber H, Krüger N, *et al.* Chloroquine does not inhibit infection of human lung cells with SARS-CoV-2. Nature. 2020;585(7826):588-590. doi: 10.1038/s41586-020-2575-3
19. Kaptein SJF, Jacobs S, Langendries L, Seldeslachts L, Ter Horst S, Liesenborghs L, *et al.* Favipiravir at high doses has potent antiviral activity in SARS-CoV-2-infected hamsters, whereas hydroxychloroquine lacks activity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020;117(43):26955-26965. doi: 10.1073/pnas.2014441117.
20. Schmith VD, Zhou JJ, Lohmer LRL. The Approved Dose of Ivermectin Alone is not the Ideal Dose for the Treatment of COVID-19. Clin Pharmacol Ther. 2020;108(4):762-765. doi: 10.1002/cpt.1889
21. Mega ER. Latin America's embrace of an unproven COVID treatment is hindering drug trials. Nature. 2020;586(7830):481-482. doi: 10.1038/d41586-020-02958-2
22. Shende P, Khanolkar B, Gaud RS. Drug repurposing: new strategies for addressing COVID-19 outbreak. Expert Rev Anti Infect Ther. 2020;3:1-18. doi: 10.1080/14787210.2021.1851195
23. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. Semin Immunopathol. 2017;39(5):529-539. doi:10.1007/s00281-017-0629-x.
24. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, *et al.* The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an

update on the status. Mil Med Res. 2020;7(1):11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0.

25. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. N Engl J Med. 2005;16:1711–1723. doi:10.1056/NEJMra050541.
26. Russell CD, Millar JE, Baillie JK. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury. Lancet. 2020;10223:473-475. doi:10.1016/S0140-6736(20)30317-2.
27. World Health Organization. [página web en Internet]. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected. 2020. [Actualizado 27 de mayo 2020; citado el 3 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected.
28. Figuera M, Hernández M, Ríos A, Villarroel H, Castro J, Carvallo M, *et al.* COVID-19: abordaje terapéutico y recomendaciones de la Sociedad Venezolana de Infectología. Bol Venez Infectol. 2020;31(1):7-24. [citado el 3 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.svinfectologia.org/index.php/publicaciones/bolet%C3%ADn-svi.html
29. Savarino A, Boelaert JR, Cassone A, Majori G, Cauda R. Effects of chloroquine on viral infections: an old drug against today's diseases. Lancet Infect Dis. 2003;11:722-727. doi:10.1016/s1473-3099(03)00806-5.
30. Gao J, Tian Z, Yang X. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. Biosci Trends. 2020;1:72-73. doi:10.5582/bst.2020.01047.
31. Devaux CA, Rolain JM, Colson P, Raoult D. New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19?. Int J Antimicrob Agents. 2020;55(5):105938. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105938.
32. Schrezenmeier E, Dörner T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. Nature Rev Rheumatol. 2020;3:155-166. doi: 10.1038/s41584-020-0372-x.
33. Mauthe M, Orhon I, Rocchi C, Zhou X, Luhr M, Hijlkema KJ *et al.* Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. Autophagy. 2018;14(8):1435-1455. doi:10.1080/15548627.2018.1474314.
34. Sturrock BR, Chevassut TJ. Chloroquine and COVID-19 - a potential game changer? Clin Med. 2020;20(3):278-281. doi:10.7861/clinmed.2020-0129.
35. Damle B, Vourvahis M, Wang E, Leaney J, Corrigan B. Clinical Pharmacology Perspectives on the Antiviral Activity of Azithromycin and Use in COVID-19. Clin Pharmacol Ther. 2020;108(2):201-211. doi:10.1002/cpt.1857.
36. Zimmermann P, Ziesenitz VC, Curtis N, Ritz N. The immunomodulatory effects of macrolides-a systematic review of the underlying mechanisms. Front Immunol. 2018;9:302. doi: 10.3389/fimmu.2018.00302.
37. Gautret P, Lagier JC, Parola P, Hoang VT, Meddeb L, Mailhe M, *et al.* Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. Int J Antimicrob Agents. 2020;20:105949. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105949.
38. Velázquez-Salinas L, Verdugo-Rodriguez A, Rodriguez LL, Borca MV. The Role of Interleukin 6 During Viral Infections. Front Microbiol. 2019;10:1057. doi:10.3389/fmicb.2019.01057.
39. Sheppard M, Laskou F, Stapleton PP, Hadavi S, Dasgupta B. Tocilizumab (Actemra). Hum Vaccin Immunother. 2017;13(9):1972-1988. doi:10.1080/21645515.2017.1316909
40. Xu X, Han M, Li T, Sun W, Wang D, Fu B, *et al.* Effective treatment of severe COVID-19 patients with Tocilizumab. Proc Natl Acad Sci USA. 2020;117(20):10970-10975. doi:10.1073/pnas.2005615117
41. Moore BJB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. Science. 2020;368(6490):473-474. doi:10.1126/science.abb8925
42. Amirian ES and Levy JK. Current knowledge about the antivirals remdesivir (GS-5734) and GS-441524 as therapeutic options for coronaviruses. One Health. 2020;9:100128. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100128.
43. Grein J, Ohmagari N, Shin D, Diaz G, Asperges E, Castagna A, *et al.* Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. N Engl J Med. 2020;382(24):2327-2336. doi:10.1056/NEJMoa2007016.
44. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, *et al.* Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*. Cell Res. 2020;3:269-271. doi:10.1038/s41422-020-0282-0.
45. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea J. Janus kinases in immune cell signalling. Immunol Rev. 2009;228(1):273–287. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00754.x.
46. Gadina M, Le MT, Schwartz DM, Silvennoinen O, Nakayamada S, Yamaoka K, el tal. Janus kinases to jakinibs: from basic insights to clinical practice. Rheumatology (Oxford) 2019;58(Suppl 1):i4–i16. doi: 10.1093/rheumatology/key432.
47. Favalli EG, Biggioggero M, Maioli G, Caporali R. Baricitinib for COVID-19: a suitable treatment?. Lancet Infect Dis. 2020;20(9):1012-1013. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30262-0.
48. National Institutes of Health. [página web en Internet]. NIH issues treatment guidelines for COVID-19. [Actualizado 22 de abril 2020; citado el 28 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://dgalerts.docguide.com/nih-issues-treatment-guidelines-covid-19?nl_ref=newsletter&pk_campaign=newsletter&nl_eventid=38901&nl_campaignid=3641&pw_siteID=25&ncov_site=covid-

19&MemberID=100754561 Accessed April 22, 2020.

49. Casadevall A, Pirofski LA. The convalescent sera option for containing COVID-19. J Clin Invest. 2020:130(4):1545-1548. doi:10.1172/JCI138003.
50. Shen C, Wang Z, Zhao F, Yang Y, Li J, Yuan J, *et al*. Treatment of 5 Critically Ill Patients With COVID-19 With Convalescent Plasma. JAMA. 2020;323(16):1582-1589. doi: 10.1001/jama.2020.4783.
51. Zhang B, Liu S, Tan T, Huang W, Dong Y, Chen L, *et al*. Treatment With Convalescent Plasma for Critically Ill Patients With SARS-CoV-2 Infection. Chest. 2020:158(1):e9-e13. doi:10.1016/j.chest.2020.03.039.
52. Ju B, Zhang Q, Ge J, Wang R, Sun J, Ge X, *et al*. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. Nature. 2020;584(7819):115-119. doi:10.1038/s41586-020-2380-z
53. Shanmugaraj B, Siriwattananon K, Wangkanont K, Phoolcharoen W. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). Asian Pac J Allergy Immunol. 2020;38(1):10-18. doi:10.12932/AP-200220-0773
54. Baum A, Ajithdoss D, Copin R, Zhou A, Lanza K, Negron N, *et al*. REGN-COV2 antibodies prevent and treat SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques and hamsters. Science. 2020;370(6520):1110-1115. doi:10.1126/science.abe2402
55. Yang L, Liu W, Yu X, Wu M, Reichert JM, Ho M. COVID-19 antibody therapeutics tracker: a global online database of antibody therapeutics for the prevention and treatment of COVID-19. Antib Ther. 2020;3(3):205-212. doi:10.1093/abt/tbaa020
56. World Health Organization. [página web en Internet]. [Actualizado 21 de julio 2020; citado el 28 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/novel-coronavirus-landscacpe-covid-19f65d59aff81049f5a50d37bebf0caf93.pdf?sfvrsn=394d10c9_2&download=true
57. World Health Organization. [página web en Internet]. [Actualizado 21 de julio 2020; citado el 28 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines July 21, 2020.
58. De Sanctis JB, Garmendia JV. Vaccine therapy update for pregnant, immunocompromised, and chronic diseases patients. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov. 2015;9(1):46-53. doi:10.2174/1872213x09666150318114217.
59. García A, De Sanctis JB. An overview of adjuvant formulations and delivery systems. APMIS. 2014;122(4):257-267. doi:10.1111/apm.12143.
60. Lurie N, Saville M, Hatchett R, Halton J. Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. N Engl J Med. 2020; 382(21):1969-1973. doi:10.1056/NEJMp2005630.
61. 61.Chen WH, Strych U, Hotez PJ, Bottazzi ME. The SARS-CoV-2 Vaccine Pipeline: an Overview. Curr Trop Med Rep. 2020:1-4. doi:10.1007/s40475-020-00201-6.
62. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. Immunity. 2020;52(4):583-589. doi:10.1016/j.immuni.2020.03.007.
63. Twomey JD, Luo S, Dean AQ, Bozza WP, Nalli A, Zhang B. COVID-19 update: The race to therapeutic development. Drug Resist Updat. 2020;53:100733. doi:10.1016/j.drup.2020.100733
64. Iwanaga N, Cooper L, Rong L, Beddingfield B, Crabtree J, Tripp RA, *et al*. Novel ACE2-IgG1 fusions with improved activity against SARS-CoV2. Preprint. bioRxiv. 2020;2020.06.15.152157. Published 2020 Jun 15. doi:10.1101/2020.06.15.152157
65. Treon S, Castillo J, Skarbnik A, Soumerai J, Ghobrial I, Guerrera ML, *et al*. The BTK inhibitor ibrutinib may protect against pulmonary injury in COVID-19–infected patients. Blood. 2020;135(21):1912-1915 doi: 10.1182/blood.2020006288
66. Weber ANR, Bittner Z, Liu X, Dang TM, Radsak MP, Brunner C. "Bruton's Tyrosine Kinase: An Emerging Key Player in Innate Immunity." Front Immunol. 2017;8:1454. doi:10.3389/fimmu.2017.01454

AGRADECIMIENTO PARA LOS ÁRBITROS DE 2020

La contribución de los árbitros es esencial para mantener y mejorar la calidad de los trabajos publicados en la Revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas. Por esta razón queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a los colegas quienes han dedicado tiempo y esfuerzo para el arbitraje de los trabajos publicados en nuestra revista durante el año 2020.

Celsy Hernández

Clara Martínez

Cristina Gutiérrez

Eduardo Romero

Francisco Larrea

Lisbeth Borjas

Maikell Segovia

Mariano Fernández-Silano

Mercedes Cerviño

Merlyn Vivenes

Rafael Apitz

Saúl Peña

Valmore Rodríguez

Yaira Mathinson

ÍNDICE POR AUTORES AÑO 2020

A

Abed, Dina

véase González, Maczy 2020;23(1):14-19

B

Bracho, Aide

véase González, Maczy 2020;23(1):14-19

Bujosa, Cristina

Infografía: Diagnóstico de laboratorio de COVID-19 2020;23(1):131

D

De Sanctis, Juan

Potenciales opciones terapéuticas para infecciones por SARS-CoV 1 Y 2 2020;23(2):206-214

D'Suze, Carlos

Pruebas antigénicas en la vigilancia epidemiológica de COVID-19 2020;23(2):190-205

E

Echezuería, Luís

véase Rísquez, Alejandro 2020;23(2):136-143

véase D'Suze Carlos 2020;23(2):190-205

F

Fernández-Silano, Mariano

véase Rísquez, Alejandro 2020;23(2):136-143

Frey, Juan

véase Bujosa, Cristina 2020;23(1):131

G

Garcés, María Fatima

Editorial 2020;23(1):1-2

Editorial 2020;23(2):134-135

véase Hernández, Celsy 2020;23(1):20-57

véase Hernández, Celsy 2020;23(1):58-100

véase Hernández, Celsy 2020;23(1):101-117

véase Hernández, Celsy 2020;23(1):118-130

véase Hernández, Celsy 2020;23(2):144-169

véase Hernández, Celsy 2020;23(2):170-189

García, Alexis

véase De Sanctis, Juan 2020;23(2):206-214

González, Maczy

Papel del laboratorio clínico en el diagnóstico del COVID-19. Algunos aspectos importantes del SARS-CoV-2 2020;23(1):14-19

Gutiérrez, Cristina

SARS-CoV-2: aspectos biológicos, epidemiológicos y diagnósticos de un coronavirus emergente 2020;23(1):3-13

véase Bujosa, Cristina 2020;23(1):131

H

Hernández, Celsy

El laboratorio en la pandemia de COVID-19: detección del virus SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19. 2020;23(1):20-57

COVID-19: los primeros 40 días de una pandemia 2020;23(1):58-100

Pandemia de COVID-19 en Venezuela: la primera cuarentena. 2020;23(1):101-117

Pandemia de COVID-19 en Venezuela: segunda cuarentena. 2020;23(1):118-130

A más de 6 meses de la declaración de la pandemia: requisitos de las instalaciones, equipos y personal del laboratorio para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19. 2020;23(2):144-169

Detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19: A más de 6 meses de la declaración de la pandemia. 2020;23(2):170-189

Hernández, Elizabeth 2020;23(1):58-100

véase Hernández, Celsy 2020;23(1):101-117

véase Hernández, Celsy 2020;23(1):118-130

véase Hernández, Celsy 2020;23(2):144-169

véase Hernández, Celsy 2020;23(2):170-189

véase Hernández, Celsy

M

Marcano, Maidy

véase Bujosa, Cristina 2020;23(1):131

Martínez, Gricelis

véase De Sanctis, Juan 2020;23(2):206-214

Mijares, Michael

véase De Sanctis, Juan 2020;23(2):206-214

Moreno, Dolores

véase De Sanctis, Juan 2020;23(2):206-214

O

Oletta, José Félix

véase Rísquez, Alejandro 2020;23(2):136-143

R

Rísquez, Alejandro

Pandemia y epidemia de COVID-19 en Venezuela y proyección en aplazamiento: subregistro, ruralización y exceso de mortalidad. Noviembre, 2020. 2020;23(2):136-143

Rodríguez, Melissa

véase Bujosa, Cristina 2020;23(1):131

S

Sindas, Maribel

véase González, Maczy 2020;23(1):14-19

V

Villasmil, Josefa

véase D'Suze Carlos 2020;23(2):190-205

ÍNDICE POR TITULOS 2020

A

A más de 6 meses de la declaración de la pandemia: requisitos de las instalaciones, equipos y personal del laboratorio para la detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19. 2020;23(2):144-169

C

COVID-19: los primeros 40 días de una pandemia 2020;23(1):58-100

D

Detección del SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19: A más de 6 meses de la declaración de la pandemia. 2020;23(2):170-189

E

El laboratorio en la pandemia de COVID-19: detección del virus SARS-CoV-2 y diagnóstico de COVID-19. 2020;23(1):20-57

I

Infografía: Diagnóstico de laboratorio de COVID-19 2020;23(1):131

P

Pandemia de COVID-19 en Venezuela: la primera cuarentena. 2020;23(1):101-117

Pandemia de COVID-19 en Venezuela: segunda cuarentena. 2020;23(1):118-130

Pandemia y epidemia de COVID-19 en Venezuela y proyección en aplazamiento: subregistro, ruralización y exceso de mortalidad. Noviembre, 2020. 2020;23(2):136-143

Papel del laboratorio clínico en el diagnóstico del COVID-19. Algunos aspectos importantes del SARS-CoV-2 2020;23(1):14-19

Potenciales opciones terapéuticas para infecciones por SARS-CoV 1 Y 2 2020;23(2):206-214

Pruebas antigénicas en la vigilancia epidemiológica de COVID-19 2020;23(2):190-205

S

SARS-CoV-2: aspectos biológicos, epidemiológicos y diagnósticos de un coronavirus emergente 2020;23(1):3-13

ÍNDICE PALABRAS CLAVE AÑO 2020

A

Anticuerpos 2020;23(2):170-189

Antígenos 2020;23(2):170-189

C

Coronavirus 2020;23(1):3-13
2020;23(1):20-57
2020;23(1):58-100
2020;23(1):101-117
2020;23(1):118-130
2020;23(2):170-189

COVID-19 2020;23(1):3-13
2020;23(1):14-19
2020;23(1):20-57
2020;23(1):58-100
2020;23(1):101-117
2020;23(1):118-130
2020;23(2):136-143
2020;23(2):144-169
2020;23(2):170-189

Cuarentena 2020;23(1):58-100

Cuarentena colectiva 2020;23(1):101-117
2020;23(1):118-130

D

Diagnóstico 2020;23(1):3-13
2020;23(1):14-19
2020;23(2):144-169

E

Epidemia 2020;23(2):136-143

Equipos 2020;23(2):144-169

L

Laboratorio Clínico 2020;23(1):14-19
2020;23(1):20-57
2020;23(2):144-169
2020;23(2):170-189

I

Instalaciones 2020;23(2):144-169

O

OMS 2020;23(1):20-57
2020;23(1):58-100
2020;23(2):144-169
2020;23(2):170-189

P

Pandemia 2020;23(1):20-57
2020;23(1):58-100
2020;23(1):101-117
2020;23(1):118-130
2020;23(2):144-169
2020;23(2):170-189

Personal 2020;23(2):144-169

Prevención y control de infección 2020;23(2):144-169

Proyección 2020;23(2):136-143

Pruebas antigénicas 2020;23(2):190-205

Pruebas diagnósticas 2020;23(2):190-205

Pruebas rápidas 2020;23(2):170-189

R

Replicación 2020;23(1):3-13

Requisitos 2020;23(2):144-169

RTqPCR 2020;23(1):20-57
2020;23(2):170-189

S

SARS-CoV-1 2020;23(2):206-214

SARS-CoV-2 2020;23(1):3-13
2020;23(1):14-19
2020;23(1):20-57
2020;23(1):58-100
2020;23(1):101-117
2020;23(1):118-130
2020;23(2):144-169
2020;23(2):170-189
2020;23(2):206-214

T

Terapia farmacológica 2020;23(2):206-214

V

Venezuela 2020;23(1):101-117
2020;23(1):118-130
2020;23(2):136-143

Vigilancia epidemiológica 2020;23(2):136-143
2020;23(2):190-205

INFORMACION PARA LOS AUTORES

Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, publica artículos originales, revisiones, cartas al editor y comunicaciones breves relacionadas con biología humana, bioanálisis y áreas afines, que contribuyan al avance de la investigación y difusión científica.

Envío del Trabajo

El autor debe enviar un original del artículo, con una carta de presentación firmada por todos los autores como constancia escrita que han contribuido en el diseño, ejecución, análisis e interpretación de los datos, redacción del artículo y, en la revisión crítica del contenido del artículo original a ser publicado. Debe dejar constancia que el trabajo no ha sido publicado ni enviado a otra revista. También indicar el orden de los autores y el autor de correspondencia con su dirección y correo electrónico. Los autores cuando presentan el manuscrito, deben revelar todas las entidades financieras y las relaciones personales que puedan haber influido en el trabajo, es decir deben declarar explícitamente si existen o no conflicto de intereses.

La revista utiliza en forma preferencial el sistema electrónico, por lo tanto debe acompañar el envío de un CD, en "Word for Windows®", en cuya etiqueta se indique el nombre del autor principal.

Sistema de Arbitraje

Todos los artículos originales pasan por un proceso de arbitraje externo, realizado por tres árbitros con experticia en el tema específico. Las revisiones igualmente son evaluadas por especialistas. La decisión se tomará de acuerdo a la opinión de los árbitros aprobada por el Comité Editorial. La autoría del artículo y el arbitraje, son del dominio exclusivo del Comité Editorial. Los autores recibiránla opinión de los árbitros con las recomendaciones por parte del Comité en cuanto a modificaciones de forma y redacción. Las respuestas deben enviarse en un lapso prudencial, con una carta donde el autor señale las modificaciones realizadas y argumente aquellas que no considera adecuadas.

Normas Editoriales

Todas las partes del manuscrito deben estar escritas a doble espacio. Cada sección comenzará en página nueva, todas numeradas, con la siguiente secuencia: página del título, nombre completo de los autores (sin títulos profesionales), dirección de la(s) institución(es) donde fue realizado, y señalar con números consecutivos la que corresponde a cada autor.

Los artículos originales deben guardar la siguiente estructura:

Título en español e inglés (corto, no más de 15 palabras, 75 caracteres), Titulillo en español Resumen y Palabras Clave en español e inglés), Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias. Cuadros e Ilustraciones. Cada sección debe comenzar en hoja aparte, así como también los cuadros e Ilustraciones con sus respectivos pies o epígrafe.

Resumen debe establecer los objetivos del estudio, los procedimientos básicos (selección, métodos de observación y análisis) los hallazgos más importantes, proporcionar datos específicos y, significación estadística y las conclusiones principales sobre la base de los resultados del estudio.

No debe contener referencias ni siglas que no estén identificadas. El límite máximo son 250 palabras y no debe ser estructurado.

Al final del resumen deben estar 3 a 10 palabras clave, que incluyan descriptores en inglés, de la lista del "Medical Subject Headings (MeSH) y en español de la lista de "descriptores en Ciencias de la Salud" (DECS).

Introducción expresa el propósito del artículo, los antecedentes internacionales y nacionales, mediante referencias actualizadas. En el últimopárrafo de la introducción debe aparecer en forma clara y precisa el objetivo del estudio.

Metodología describa claramente como se eleccionaron los sujetos que participaron en el estudio, edad, sexo y otras características importantes. En los manuscritos de revisión se incluirá una sección en la que se describan los métodos utilizados para localizar, seleccionar o extraer los datos.

Los estudios con humanos deben dejar constancia escrita de la aprobación por parte del Comité de Ética de la institución donde se realizó la investigación, así como el consentimiento de los individuos que participaron y, evitar en todo momento que puedan ser identificados, tener especial cuidado con las fotografías. Cuando se trate de experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución acerca del cuidado y uso de animales en el laboratorio.

Describa los métodos estadísticos con detalle suficiente para que puedan verificarse los resultados. Defina los términos, las abreviaturas y los símbolos estadísticos. Cuando sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de medición de error o incertidumbre (como intervalos de confianza).

Resultados. Presente los resultados en el texto, cuadros, ilustraciones y figuras en una secuencia lógica. No repita en el texto la información que contienen los cuadros y figuras, sólo destaque lo más importante. Utilice en esta sección el tiempo pretérito.

Discusión. Destaque los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones que se derivan de los resultados. Cuídese de no repetir la información ya presentada en las secciones anteriores. Relacione las observaciones con la de otros estudios internacionales y nacionales, incorporando en la discusión el análisis de las referencias bibliográficas actualizada relacionadas con el estudio. Establezca el nexo entre las conclusiones y los objetivos del estudio, y cierre la discusión con la conclusión más importante del estudio o con la propuesta de nuevas hipótesis, cuandoestén justificadas.

Las Revisiones pueden ser solicitadas por el Editor preferentemente a especialistas sobre un tema de importancia científica en la actualidad, pero también se aceptan revisiones de autores, las cuales seguirán el proceso de arbitraje externo En la revista también se publican reportes cortos de hallazgos de interés para el ámbito de la revista, así como casos clínicos cuya ocurrencia sea un verdadero hallazgo.

Las cartas al editor, por lo general están referidos a comentarios de artículos recientes publicados en la revista y su extensión no debe ser mayor a dos páginas.

Cuadros. Cada cuadro debe escribirse a doble espacio, sin líneas verticales ni horizontales internas y en hoja aparte. Numérelos consecutivamente con números arábigos y asigne un título breve en minúscula. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en el cuadro. Si incluye datos publicados o inéditos o de otra fuente, obtenga la autorización

para reproducirlos y conceda el reconocimiento al autor. No incluya más de 5 cuadros, máximo de 5 columnas y 8 filas.

Ilustraciones (Figuras) Las figuras deben estar dibujadas en forma profesional (archivos electrónicos de las figuras en formato JPEG o GIF). Se numeran en forma consecutiva con números arábigos. Las fotografías deben ser en blanco y negro, con buen contraste, en papel satinado con las siguientes medidas 127x173 mm, sin exceder 203x 254 mm. Ubicar una por página, título breve y una leyenda que facilite la comprensión del contenido.

Agradecimientos Aparecen al final del texto, allí se incluyen las colaboraciones que deben ser reconocidos pero que no justifican la autoría, ayuda técnica, apoyo financiero y material y las relaciones que puedan suscitar conflicto de intereses.

Referencias. Las referencias bibliográficas dan el soporte científicoal estudio realizado, por lo tanto deben ser recientes, preferiblemente de los últimos cinco años. Las referencias internacionales y nacionales constituyen antecedentes del estudio que se está publicando, de esta manera, también reconocemos la labor de los investigadores venezolanos que han aportado al tema en estudio. Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden como se mencionan por primera vez en el texto. Cite cuidadosamente en el texto, cuadros y figuras todas las referencias con un número entre paréntesis. Cuide que la escritura reproduzca fielmente el artículo original y vigile la escritura en inglés, para evitar cometer errores al transcribir la información.

Las referencias bibliográficas en Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, siguen el estilo de las normas de Vancouver. (http://www.icmje.org.). Abrevie los títulos de las revistas de acuerdo con el estilo del Index Medicus y consulte la lista de revistas indizadas en (http://www.nlm.nih.gov). No se aceptan como referencias resúmenes. Los artículos aceptados pero que todavía no se han publicado, se indican como "en prensa", con la información de la revista donde fue aceptado.

Ejemplos de referencias:

Artículos de revista

Enumere los primeros seis autores y añada la expresión "*et al*"

1. Artículo de revista ordinario

Bremer AA, Byrd RS, Auinger P. Racial trends in sugar sweetened beverage consumption among US adolescents: 1988-2004. Int J Adolesc Med Health 2011; 23(3):279-86.

Libros

2. Individuos como autor:

Casademunt J. Sobrepeso y obesidad infantil. Barcelona: Editorial Océano; 2005.

3. Editores como autor:

Alemán M, Bernabeu-Mestre JB, editores. Bioética y Nutrición. Alicante. Universidad de Alicante: Editorial Agua Clara; 2010.

4. Capítulo de libro:

López de Blanco M, Landaeta-Jiménez M. Los estudios de crecimiento y desarrollo físico en Venezuela. En: Fano V, Del Pino M, Cano S, compiladores.

Ensayo sobre crecimiento y desarrollo presentado al Dr. Horacio Lejarraga por sus colegas y discípulos. Buenos Aires: Paidos; 2011. p. 431-454

Material electrónico

5. Artículo de revista en Internet:

Vázquez de la Torre MJ, Vázquez Castellanos JL, Crocker Sagastume R. Hipertensión arterial en niños escolares con sobrepeso y obesidad. Respyn [Serie en Internet] 2011 Jul-Sep

[citada 5 nov 2011]; 12(3): [6 pantallas]. Se consigue en: URL: http://www.respyn.uanl.mx/xii/3/articulos/Hipertension_arterial.htm.

Para otros ejemplos de formato de referencias bibliográficas, los autores deberían consultar la página web: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html. Para cualquier otro tipo de información se sugiere consultar: Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication Updated April 2010. http://www.icmje.org.

Antes de enviar el artículo, revise cuidadosamente las instrucciones a los autores y verifique si el artículo cumple con los requisitos editoriales de la revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas.

Artículo de revisión:

El artículo de revisión facilita la actualización y revisión de un aspecto científico, realizado por especialistas en el tema: ofrece al lector interesado una información condensada sobre un tema, realiza interpretaciones y adelanta explicaciones en tópicos específicos relacionados al área del Bioanálisis.

El número máximo de autores es cuatro. El artículo requiere de, al menos, 40 referencias con prioridad de los últimos cinco (5) años. En caso de que esto no sea posible, deben especificarse las razones (tópicos muy poco frecuentes o muy poco investigados previamente). El texto deberá expresar con claridad las ideas a ser desarrolladas, y tratara de transmitir un mensaje útil para la comprensión del tema central del artículo de revisión.

Las secciones básicas del artículo de revisión son: página inicial, resumen, (en español y en inglés), introducción, texto, referencias bibliográficas. El cuerpo de las revisiones es libre, aunque es conveniente subdividirlo en secciones.

El autor o los autores de un artículo de revisión deben plasmar su interpretación crítica de los resultados de la revisión bibliográfica con claridad y precisión, y dejar siempre la inquietud sobre aquellos tópicos del tema que requieren una mayor o más profunda investigación. La extensión de los artículos de revisión no debe ser mayor de 6000 palabras, excluyendo las referencias.

Acta Científica
de la Sociedad Venezolana
de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 23 - No 2 2020

EDITORIAL
María Fátima Garcés..... 134

REVIEW ARTICLE:
Pandemic and COVID-19 epidemic in venezuela and projection in deferral: Under-registration, ruralization and excess mortality. November, 2020.
Alejandro Rísquez Parra, Luis Echezuría Marval, José Félix Oletta López, Mariano Fernández-Silano..... 136

More than 6 months after the pandemic declaration: laboratory facilities, equipment and personnel requirements for the detection of SARS-CoV-2 and diagnosis of COVID-19.
Celsy Hernández, María Fátima Garcés, Elizabeth Hernández..... 144

SARS-CoV-2 detection and COVID-19 diagnosis: more than 6 months after the declaration of the pandemic
Celsy Hernández, María Fátima Garcés, Elizabeth Hernández..... 170

Antigenic tests in COVID-19 epidemiological surveillance
Carlos D'Suze García, Josefa Villasmil Arias, Luis Echezuria Marval..... 190

Potential therapeutic options for SARS-CoV 1 and 2 infections
Juan Bautista De Sanctis, Dolores Moreno, Alexis García, Gricelis Martínez, Michael Mijares..... 206

THANK YOU TO THE 2020 ARBITERS..... 215

INDEX BY AUTHORS, TITLES AND KEYWORDS YEAR 2020..... 216

INFORMATION FOR AUTHORS..... 220

Diseño y diagramación: Ana María Reyes, digivi@gmail.com
Soporte Web: Nexus Radical, Altemar Pérez, aperez@estudiopro.com