

## EL LABORATORIO EN LA PANDEMIA DE COVID-19: DETECCIÓN DEL VIRUS SARS-CoV-2 Y DIAGNÓSTICO DE COVID-19

Celsy Hernández,<sup>1</sup> María Fátima Garcés.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Licenciado en Bioanálisis, Magíster en Sistemas de la Calidad. 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. <sup>2</sup>Licenciado en Bioanálisis, Doctor en Bioquímica. Director 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.

Recibido 14 mayo 2020. Aceptado 30 mayo 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. La OMS declaró el 11 de marzo de 2020 a la COVID-19 como una pandemia. Esta revisión pretende precisar 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 de COVID-19 causada por el SARS-CoV-2.

**Palabras Clave:** Pandemia COVID-19, SARS-CoV-2, Coronavirus, Laboratorio clínico, RT-qPCR, OMS.

## THE LABORATORY IN THE COVID-19 PANDEMIC: DETECTION OF THE SARS-CoV-2 VIRUS AND COVID-19 DIAGNOSIS

### SUMMARY

The publication of the SARS-CoV-2 genome sequencing on January 10, 2020, allowed not only 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. The WHO declares COVID-19 on March 11, 2020 as a pandemic. This review aims to specify the guidelines published by the WHO since the emergence of the infectious outbreak, in relation to the requirements and processes of the laboratory, essential for the detection and diagnosis of COVID-19 caused by SARS-CoV-2.

**Key words:** Pandemic COVID-19, SARS-CoV-2, Coronavirus, Clinical Laboratory, RT-qPCR, 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; fue notificado 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.

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).

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

Solicitar copia a: Celsy Hernández (e-mail: celsyhernandez@gmail.com)

confirman que el virus de la neumonía de Wuhan, es un nuevo virus del género betacoronavirus, de la familia Coronaviridae, relacionado con el coronavirus zoonótico causante del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS-CoV) (del inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus*) surgido en 2002-2003; y un poco menos relacionado al coronavirus zoonótico causante del Síndrome Respiratorio de Medio Oriente (MERS-CoV) (del inglés, *Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus*), surgido en 2012; el cual según la secuencia de su genoma y las imágenes obtenidas por microscopía electrónica, muestra una estructura constituida por un RNA monocatenario positivo en la nucleocápside y una envoltura, en la cual se encuentra una glucoproteína S, que forma unas espículas o espigas, que dan a la estructura infectiva, un aspecto similar al de una corona solar (2,3,4). 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 (GISAI) (del inglés, *Global Initiative on Sharing All Influenza Data*) (5,6).

El análisis evolutivo del virus muestra 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 logra 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 la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA 2), lo que le permite invadir células humanas e infectar fácilmente a la especie, y 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. Para este momento, conocer la secuenciación del genoma, permitió investigar no solo el origen del virus y estudiar su evolución y propagación, sino que también sirvió de base para el desarrollo de pruebas diagnósticas específicas para el agente infeccioso (7).

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*) (8). 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, en la provincia de Catón, China, en noviembre de 2002; sin embargo, no es el mismo virus (9,10).

El 11 de marzo de 2020, la OMS declara a la COVID-19 como una pandemia (11, 12). Esta revisión pretende precisar 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 de COVID-19 causada por SARS-CoV-2.

## Desarrollo

### A. Propósito de las pruebas de laboratorio para COVID-19

La guía de “Manejo clínico de infección respiratoria aguda grave (IRAG), cuando se sospecha la enfermedad COVID-19”, (en inglés, *Clinical management of severe acute respiratory infection*

(SARI) when COVID-19 disease is suspected), publicada por la OMS en su última versión actualizada el 12 de marzo de 2020; indica que la enfermedad por Coronavirus de 2019 (COVID-19), es una infección de las vías respiratorias causada por el SARS-CoV-2. Aunque el 81% de las personas con COVID-19 solo presentan un cuadro leve o sin complicaciones (con síntomas inespecíficos como fiebre, cansancio, tos con o sin expectoración, anorexia, malestar general, mialgia, dolor de garganta, disnea, congestión nasal o cefaleas; y en algunos pocos casos con diarrea, náuseas y vómitos); aproximadamente el 14% acaba presentando un cuadro grave que requiere hospitalización y oxigenoterapia, y el 5% tiene que ser ingresado en una unidad de cuidados intensivos. En los casos graves, la COVID-19 puede complicarse por Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (SDRA), septicemia, choque septicémico y fallo multiorgánico, en particular por lesiones renales y cardíacas agudas. La edad avanzada, la presencia de comorbilidades, puntuaciones elevadas en la escala SOFA (evaluación secuencial de fallo orgánico), y una concentración de dímero D superior a 1 µg/l en el momento del ingreso se asocian a una mayor mortalidad. Adicionalmente, el tiempo promedio (mediana) de detección de ARN viral es de 20,0 días (intervalo intercuartílico: 17,0 - 24,0), en quienes sobreviven a la COVID-19, mientras que el ARN viral es detectable hasta el fallecimiento en los no sobrevivientes. Existen pocos datos sobre la presentación clínica de la COVID-19 en grupos poblacionales específicos, como niños y embarazadas. En los niños con COVID-19, los síntomas suelen ser menos graves que en los adultos y la enfermedad cursa principalmente con tos y fiebre, habiéndose observado casos de coinfección. Se han notificado relativamente pocos casos de menores de un año con COVID-19, todos hasta ahora han manifestado cuadros leves. En la actualidad no se conocen diferencias entre las manifestaciones clínicas de la COVID-19 en las mujeres embarazadas y las que aparecen en las mujeres no embarazadas, y en general, en el conjunto de adultos en edad reproductiva. Las embarazadas o púerperas con sospecha o confirmación de COVID-19, deben recibir los tratamientos sintomáticos y de soporte vital teniendo en cuenta los cambios inmunitarios y fisiológicos que tienen lugar durante el embarazo y el puerperio (13,14).

De acuerdo con la OMS, en este momento la evidencia indica que el virus puede transmitirse a partir de personas sintomáticas y presintomáticas,

pero es poco probable que lo haga a partir de personas asintomáticas infectadas con SARS-CoV-2. En relación a la transmisión sintomática, se define como un caso sintomático COVID-19, aquel que ha desarrollado signos y síntomas compatibles con la infección por el virus del COVID-19. La transmisión sintomática se refiere a la transmisión de una persona mientras está experimentando síntomas (15). Según la Organización Mundial de la Salud, los datos científicos publicados hasta ahora indican que el virus causante del COVID-19 puede transmitirse principalmente desde las personas infectadas a través de gotas respiratorias, las cuales son gotas con diámetros mayores a 5-10 µm. Esta transmisión ocurre cuando una persona está en contacto (menos de 1 metro) con otra persona infectada; la cuál al hablar, toser o estornudar, genera gotas respiratorias que alcanzan las mucosas (boca o nariz) o conjuntiva (ojos) de la persona sana. Como estas gotas de saliva son muy pesadas para ser transportadas por el aire, aterrizan en los objetos y superficies que rodean a la persona infectada (16), sobre los cuales el virus puede permanecer viable hasta 72 horas (plástico y acero inoxidable), 24 horas (cartón) o hasta 4 horas (cobre), dependiendo cual sea el caso (17). 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 con la persona infectada o contacto indirecto a través de superficies u objetos contaminados con gotas respiratorias infectadas. Adicionalmente, el virus puede transmitirse 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 y broncoscopia), las cuales pueden permanecer en el aire durante largos periodos de tiempo y transmitirse a otros, a distancias superiores a 1 metro (16).

En relación a la transmisión a partir de pacientes sintomáticos, la evidencia científica indica que la eliminación del virus del tracto respiratorio superior (nariz y garganta), es más elevada los primeros tres días luego de haber iniciado los síntomas, momento en que el contagio a partir de personas sintomáticas es más alto. Por su parte, el periodo pre-sintomático, es el periodo de incubación del COVID-19, el cual es el tiempo que transcurre entre la exposición al

virus (infección), y el inicio de los síntomas, que tiene un promedio de duración entre 5 a 6 días, sin embargo, puede ser hasta de 14 días. Durante este periodo, algunas personas pueden contagiarse a partir de personas infectadas, principalmente entre 3 y 1 día antes, de que estas desarrollen los síntomas; a través de los mismos mecanismos de contagio existentes para los casos sintomáticos. Con respecto a los casos asintomáticos, se trata de pacientes infectados con SARS-CoV-2, confirmados para COVID-19 por pruebas de laboratorio pero que no presentan síntomas. De acuerdo con la OMS, la evidencia científica hasta el momento indica que no existen casos verdaderamente asintomáticos, y hasta ahora no ha habido transmisión documentada a partir de este tipo de pacientes (15). Para efectos clínicos y de vigilancia epidemiológica con respecto a la Organización Mundial de la Salud, la detección del SARS-CoV-2 así como la confirmación del diagnóstico de COVID-19, se realiza a través de pruebas moleculares ejecutadas por el laboratorio (18).

## B. Indicación de pruebas de laboratorio para COVID-19

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 (19). 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 define los "casos", que deben ser investigados por el laboratorio para infección por 2019-nCoV (ahora SARS-CoV-2) (20). A la fecha, esta publicación ha sufrido varias actualizaciones, la última de ellas el 20 de marzo de 2020. En su última versión, la guía "Vigilancia global para la infección humana causada por el virus de COVID-19" (en inglés, *Global surveillance for COVID-19 caused by human infection with COVID-19 virus*), resume la orientación actual de

la OMS sobre la implementación de la vigilancia global de COVID-19; la cual tiene los siguientes objetivos: 1) Monitorear las tendencias en la enfermedad de COVID-19 a nivel nacional y global; 2) Detectar rápidamente nuevos casos en países donde el virus no está circulando, y Monitorear los casos en países donde el virus ha comenzado a circular; 3) Proporcionar información epidemiológica para realizar evaluaciones de riesgos a nivel nacional, regional y global; y 4) Proporcionar información epidemiológica para guiar las medidas de preparación y respuesta. De acuerdo con esta orientación, entre las definiciones para "caso" de vigilancia se incluyen:

### Caso sospechoso:

A. *Un paciente con enfermedad respiratoria aguda (fiebre y al menos un signo /síntoma de enfermedad respiratoria, por ejemplo, tos, dificultad para respirar); y un historial de viaje o residencia en un lugar que informa la transmisión comunitaria de la enfermedad COVID-19 durante los 14 días previos al inicio de los síntomas;*

o

B. *Un paciente con alguna enfermedad respiratoria aguda, y que haya estado en contacto con un caso COVID-19 confirmado o probable en los últimos 14 días antes del inicio de los síntomas;*

o

C. *Un paciente con enfermedad respiratoria aguda grave (fiebre y al menos un signo/síntoma de enfermedad respiratoria, por ejemplo, tos, dificultad para respirar; y que requiere hospitalización); y en ausencia de un diagnóstico alternativo que explique completamente la presentación clínica".*

### Caso probable:

A. *Un caso sospechoso para quién las pruebas para el virus de COVID-19 no son concluyentes;*

o

B. *Un sospechoso para quién las pruebas no pudieron realizarse por algún motivo.*

### Caso confirmado:

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

### Contacto:

*Es una persona que experimentó 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 confirmados dentro de 1 metro y por más de 15 minutos; o 2. Contacto físico directo con un caso probable o confirmado; o 3. Atención directa para un paciente con enfermedad COVID-19 probable o confirmadas sin usar equipo de protección personal adecuada; o 4. Otras situaciones indicadas por las evaluaciones de riesgos (21).

Según la OMS, la guía de “Vigilancia global para la infección humana causada por el virus de COVID-19”, 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 08 de marzo 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) Países sin casos; 2) países con 1 o más casos importados o detectados localmente (casos esporádicos); 3) Países que experimentan agrupaciones de casos en el tiempo, ubicación geográfica y/o exposición común (agrupaciones de casos); 4) Países que experimentan brotes más grandes de transmisión local (transmisión comunitaria) (22).

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 (22). 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 marzo 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; a los “Casos probables” al final de la cuarentena; y a los “Casos confirmados”, a partir del día 14 luego del inicio de los síntomas. Para casos probables y 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” (23). 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” (22). 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 por la OMS en su última versión 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” (18).

Según la OMS, la propagación de COVID-19 ha aumentado dramáticamente el número de casos sospechosos y el área geográfica donde se requiere la implementación de pruebas moleculares para la detección del virus de COVID-19, lo que 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 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; 2) Los países debe prepararse para responder a diferentes escenarios de salud pública (sin casos, casos esporádicos, agrupaciones de casos o transmisión comunitaria), entendiendo que podrían 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 (19).

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 labores (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 (18). 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; 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, 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 sintomáticos (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.), 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).

### C. Instalaciones del laboratorio

En el “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, 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 recomienda a todos los países prepararse para el brote de COVID-19 antes de detectar el primer caso. Esta preparación entre otras cosas debe 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 esté disponible; el país debe prepararse 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 establece la capacidad de realizar las pruebas moleculares localmente. Cuando la capacidad operativa de realizar pruebas moleculares está disponible a nivel nacional, se debe 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 influenza y virus respiratorios acreditados por la OMS. Además, cuando la capacidad de realización de pruebas moleculares está limitado a un laboratorio de referencia, cuyas instalaciones se localizan en o cerca de una ciudad capital, y se limita el acceso oportuno a la realización de pruebas moleculares a aquellos "Casos sospechosos", que viven en otras partes del país; se debe considerar la posibilidad de disponer laboratorios moleculares móviles que puedan ser operados desde zonas remotas (18).

En relación a la bioseguridad requerida en las instalaciones destinadas a la manipulación y procesamiento de muestras biológicas sospechosas de infección con el virus de 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 (24).

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*) (25). 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 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) Alicuotar 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 (24).

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 12 de febrero 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 centrifugas, mezcla, alicuotado, agitación, mezcla vigorosa, 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. 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 cuarta edición del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, publicado por la OMS. Mientras que, el trabajo de propagación con manipulaciones del virus vivo realizado por el laboratorio (por ejemplo, cultivos, ensayos de aislamiento o neutralización), se debe llevar 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 cuarta edición del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, publicado por la OMS (26).

Según el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS (en inglés, *Manual Laboratory Biosafety*), 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 5mm de diámetro y las pequeñas gotículas de 5 a 100mm de diámetro no son visibles a simple vista. El trabajador no suele darse cuenta de 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 (27).

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. También existe espacio para el almacenamiento a largo plazo, convenientemente situado fuera de las zonas de trabajo. Adicionalmente, existe espacio e instalaciones para la manipulación y el almacenamiento seguros de 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. 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 de 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 (27).

A diferencia del Laboratorio BSL-2, el Laboratorio de contención con Nivel de Seguridad Biológica 3 (BSL-3); está separado de las zonas del edificio por las que se puede circular sin restricciones. Puede conseguirse una separación suplementaria habilitando el laboratorio al fondo de un pasillo o instalando un tabique con puerta o un sistema de acceso que delimite un pequeño vestíbulo (por ejemplo, entrada de doble puerta o laboratorio básico - nivel de bioseguridad 2), destinado a mantener la diferencia de presiones entre el laboratorio y el espacio adyacente. El vestíbulo debe contar con una zona para separar la ropa limpia de la sucia, y también puede ser necesaria una ducha. Las dobles puertas de acceso al laboratorio son de cierre automático y disponen de un mecanismo de interbloqueo, de modo que sólo una de ellas está abierta al mismo tiempo. Las superficies de las paredes, suelos y techos son impermeables y fáciles de limpiar. Todas las aberturas existentes en esas superficies (por ejemplo, para tuberías de servicio),

están obturadas para facilitar la descontaminación de los locales. La sala del laboratorio se puede precintar para proceder a su descontaminación. Los sistemas de conducción de aire están contruidos de modo que es factible la descontaminación con gases. Las ventanas están cerradas herméticamente y llevan cristales resistentes a la rotura. En las inmediaciones de todas las puertas de salida del laboratorio hay un lavamanos que no necesite ser accionado con la mano. El sistema de ventilación establece un flujo direccional hacia la sala del laboratorio, y se cuenta con un dispositivo de vigilancia visual, con o sin alarma, para que el personal compruebe en todo momento que la corriente de aire circula en el sentido deseado. El sistema de ventilación del edificio está contruido de modo que el aire del laboratorio de contención nivel de bioseguridad 3, no se escapa, dirige o recircula a otras zonas o áreas del edificio. Cuando el aire recircula dentro del laboratorio se reacondiciona mediante purifica con filtro HEPA. Cuando el aire del laboratorio (no de las CSB) se expulsa o descarga directamente al exterior del edificio, se realiza a través de filtros HEPA y se dispersa lejos de los edificios ocupados y de las tomas de aire de los edificios. Todos los filtros HEPA están instalados de modo que permiten la descontaminación con gases y la realización de pruebas. Puede contar con la instalación de un sistema de control de la calefacción, la ventilación y el aire acondicionado para impedir una presión positiva sostenida en el laboratorio. Las CSB están alejadas de las zonas de paso y de los lugares de cruce de corrientes procedentes de puertas y sistemas de ventilación. El aire que sale de las CSB de las clases I o II, y que pasa por filtros HEPA, se expulsa de manera que no se perturba el equilibrio del aire en la cámara ni en el sistema de evacuación del edificio. Dentro del laboratorio se dispone de al menos un autoclave, para descontaminar el material de desecho infectado. Si hay que sacar ese material de desecho del laboratorio de contención para su descontaminación y eliminación, hay que transportarlo en recipientes herméticos, irrompibles e impermeables de acuerdo con las normas nacionales o internacionales, según proceda. El sistema de abastecimiento de agua está dotado de dispositivos contra el reflujo. Los tubos de vacío están protegidos con sifones con desinfectante líquido y filtros HEPA o su equivalente. Las bombas de vacío alternativas también están debidamente protegidas con sifones y filtros. En relación al

mobiliario y los materiales del laboratorio aplican los mismos principios que en el caso BSL-2; a excepción que todas las actividades de manipulación de todo el material potencialmente infeccioso deben realizarse dentro de una CSB u otro dispositivo de contención física primaria. Adicionalmente, si se utilizan centrifugas durante el manejo y manipulación de muestras, éstas requieren accesorios de contención suplementarios como cubetas de seguridad o rotores sellados de contención. Algunas centrifugas y otros dispositivos, como los separadores de células, destinados al trabajo con células infectadas pueden necesitar sistemas suplementarios de ventilación y evacuación local con filtros HEPA para una contención eficiente (27).

#### D. 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 llevarse a cabo en instalaciones y por personal debidamente equipado, y con competencia técnica y de bioseguridad pertinente (4).

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 y manejo de muestras de casos sospechosos o confirmados de COVID-19 (28).

##### 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 19 de marzo 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 (isopropanol al 75% de o etanol al 80%). 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. Por su parte, la utilización racional, correcta y coherente del EPP también ayuda a reducir la propagación de agentes patógenos. El personal sanitario, incluyendo al involucrado en los procesos de laboratorio, 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 generadores de aerosoles (intubación traqueal, ventilación no invasiva, traqueotomía, reanimación cardiopulmonar, ventilación manual antes de la intubación y broncoscopia), adicionalmente, deben utilizar bata desechable, y en vez de mascarilla médicas, utilizar un respirador de protección contra partículas con un nivel de protección mínimo de N95 (certificado del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo de los Estados Unidos (NIOSH)), de FFP2 (Norma de la Unión Europea 149N95) o similar; así como un delantal impermeable para los procedimientos que impliquen grandes volúmenes de líquidos que podrían atravesar la bata (28).

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. 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. Se debe utilizar mascarilla y gafas de seguridad (o en su defecto protector facial), para proteger las mucosas y conjuntivas, 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 centrifugas, alcuotado, mezcla, agitación, agitación con vortex, apertura de contenedores cuya presión puede ser diferente a la presión ambiental, etc.), se realicen en Cámaras de Seguridad Biológica Clase II (26); y que adicionalmente, se empleen otros dispositivos de contención física apropiados como por ejemplo, cubetas de seguridad de centrifuga y rotores sellados para la centrifugación (24).

Cuando el laboratorio realice toma de muestras respiratorias en pacientes sospechosos (sobre todo cuando esta toma se realiza a través de procesos generadores de aerosoles, o en espacios donde se realicen procedimientos generadores de aerosoles, como las Unidades de Cuidados Intensivos, UCI); así como cuando se ejecuten procedimientos generadores de gotas, salpicaduras y aerosoles fuera de la CSB clase II, el personal del laboratorio debe utilizar respirador N95, FFP2 o su equivalente, en vez de mascarilla médicas (24). 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 (3). 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 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 (26). 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

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 resistencia a los fluidos, buena transpirabilidad, caras internas y externas deben estar claramente identificadas, 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; Resistencia a fluidos a una presión mínima de 120 mmHg basada en ASTM F1862-07, ISO 22609 o equivalente. Transpirabilidad: MIL-M-36945C, EN 14683 anexo C, 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.
Gafas	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
Protector facial	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.
Respirador N95/FFP2	Respirador “N95” según US NIOSH, o “FFP2” según EN 149N95 Buena transpirabilidad con diseño que no colapsa contra la boca (por ejemplo, pato, en forma de copa).
Bata	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	Hechas de poliéster con revestimiento de PVC o 100% PVC o 100% caucho. Impermeable. Peso base mínimo: 250 g / m <sup>2</sup> . 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...](http://www.paho.org/documentos/requerimientos-para-us...)

técnicas de los equipos de protección personal (EPP); en el contexto COVID-19 es la siguiente (29):

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 etílico de 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. Para que el uso de ese equipo sea eficaz, es necesario que se suministren unidades de calidad de forma regular, que el personal esté bien formado en su uso, que se lleve a cabo una correcta higiene de manos, y que el comportamiento de los profesionales sea especialmente cuidadoso (28).

Según la OMS, en relación específica al uso de mascarillas, se recomienda que los profesionales deben usarla cada vez que entren en una habitación o sala (cohorte), donde se hayan ingresado a casos sospechosos o confirmados de infección por el 2019-nCoV, 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 la mascarilla N95 certificada por el Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH) de los Estados Unidos de América, la mascarilla normalizada FFP2 de la Unión Europea u otra equivalente; durante la ejecución de todos aquellos procedimientos que generen aerosoles (30).

De acuerdo con la guía “Consejos sobre la utilización de mascarillas en el entorno comunitario, en la atención domiciliar y en centros de salud en el contexto del brote de nuevo coronavirus (2019-nCoV), (en inglés, 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), publicada por la OMS el 8 de febrero de 2020, es importante que el personal sanitario considere que las mascarillas médicas deben utilizarse y desecharse correctamente, a fin de que sean eficaces en la prevención de la infección, y se evite incrementar el riesgo de transmisión asociado con el uso y la eliminación incorrecta de estos equipos

de protección personal. Para ello, el personal sanitario debe colocarse la mascarilla minuciosamente para que cubra la boca y la nariz, y anudarla firmemente para que no haya espacios de separación con la cara; no tocarla mientras se lleve puesta; quitársela con la técnica correcta (desanudándola en la nuca sin tocar su parte frontal); después de quitarse o tocar inadvertidamente una mascarilla usada, lavarse las manos con una solución hidroalcohólica, o con agua y jabón, si están visiblemente sucias; cuando la mascarilla esté húmeda, sustituirla por otra limpia y seca; no reutilizar las mascarillas de un solo uso; y desechar inmediatamente las mascarillas de un solo uso una vez utilizadas (30). Adicionalmente, 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 in context of COVID-19), publicada en su última versión el 06 de marzo de 2020, es importante que el personal sanitario sea consciente que el uso de máscara médica es una de las medidas de prevención que pueden limitar la propagación de ciertas enfermedades virales respiratorias, incluido COVID-19, a partir de personas infectadas. Sin embargo, el uso de una máscara por sí 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. Adicionalmente, el uso ampliado de máscaras por parte de las personas sanas en el entorno comunitario a fin de prevenir la transmisión de COVID-19, no tiene sustento sobre evidencia científica hasta el momento, excepto la reducción del riesgo potencial de exposición de la persona infectada durante el periodo pre-sintomático, así como reducir la estigmatización de las personas que usan máscara para control de la fuente. Es importante destacar que el uso de máscaras por personas sanas en la comunidad puede crear una falsa sensación de seguridad, al descuidar otras medidas esenciales, como las prácticas de higiene de manos y el distanciamiento físico, y puede conducir a riesgos potenciales entre los que se incluyen la contaminación al tocar la cara debajo de las máscaras, al reutilizar las máscaras médicas o al utilizar máscaras no médicas, elaboradas con otro tipo de materiales (por ejemplo algodón), y cuya efectividad y eficiencia en relación a la filtración, transpirabilidad, resistencia a los líquidos y ajuste, no han sido probadas hasta los momentos. Un reciente estudio que evaluó el uso de máscaras de tela en un centro de atención

médica, descubrió que los trabajadores de la salud que usaban máscaras de tela de algodón tenían un mayor riesgo de infección en comparación a aquellos que usaban máscaras médicas. Por lo tanto, las máscaras de tela de algodón no se consideran apropiadas para los trabajadores de atención médica. Sin embargo, en caso de que se genere la producción de máscaras de tela para la atención médica y el uso comunitario, a fin de paliar una situación de escasez y desabastecimiento, se recomienda que las mismas sean evaluadas en el cumplimiento de los mínimos requisitos técnicos específicos, por la autoridad competente (31).

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 08 de marzo 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, a través de diversas 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. La reutilización de cualquier artículo sin un proceso de reprocesamiento/descontaminación se considera inadecuada e insegura. Muchos dispositivos médicos están diseñados para ser reutilizables, de ahí su compatibilidad con los métodos de descontaminación. Este no es el caso de los protectores faciales, máscaras médicas y respiradores. Normalmente, para cualquier método de reprocesamiento, se requiere limpieza antes de la desinfección y esterilización. Este es un problema para las máscaras y los respiradores porque no se pueden limpiar sin perder sus propiedades. Los métodos para reprocesar máscaras o respiradores no están bien establecidos ni estandarizados (sin embargo, en este momento hay estudios probando enfoques prometedores, como por ejemplo la esterilización a vapor o calor en condiciones estandarizadas); y por lo tanto, la OMS recomienda que se consideren solo cuando exista escasez severa o falta de estos EPP; y 3) Considerar elementos alternativos en comparación con los estándares recomendados por la OMS. Una consideración adicional es el uso del EPP más allá de la vida útil o la fecha de vencimiento designada por el fabricante. Los artículos deben inspeccionarse antes de usarse para asegurar que están en buenas condiciones. Los respiradores N95 vencidos aún pueden ser efectivos para la protección del personal médico si las correas están intactas, si no hay signos de daño visible y se verifica el sellado antes de usarse. 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 (17).

## 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 12 de febrero 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/nasofaríngeo, 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 cuando 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 (26).

### **b. Desinfección y esterilización de instalaciones y equipos de trabajo**

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 19 de marzo 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 descontaminación que permitan la desinfección del entorno y las instalaciones, así como de los equipos y materiales, que estuvieron en contacto con pacientes infectados o sus secreciones.

La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, materia orgánica y manchas, incluye el cepillado, la aspiración, el desempolvado en seco, el lavado o el fregado con un paño y agua con jabón o detergente. La suciedad, la tierra y la materia orgánica pueden albergar microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germicidas químicos y desinfectantes). La limpieza previa es fundamental para conseguir una correcta desinfección o esterilización. La limpieza previa debe llevarse a cabo con cuidado para evitar la exposición a agentes infecciosos. Deben utilizarse materiales que sean químicamente compatibles con los germicidas que vayan a utilizarse después. Es muy frecuente utilizar el mismo germicida químico para la limpieza previa y la desinfección. Por su parte, la descontaminación del espacio, el mobiliario y el equipo de laboratorio requiere una combinación de desinfectantes líquidos y gaseosos. Las superficies

pueden descontaminarse con una solución de hipoclorito sódico (NaOCl); una solución que contenga 1 g/l de cloro libre puede ser apropiada para la limpieza general, pero se recomiendan soluciones más potentes (5 g/l) cuando se trate de situaciones de alto riesgo. Para la descontaminación de espacios y superficies, las soluciones de lejía pueden sustituirse por fórmulas que contengan un 3% de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (27). Un procedimiento eficaz y adecuado para evitar la propagación de la infección por COVID-19 consiste en limpiar y descontaminar en profundidad las superficies del entorno con agua y detergente, y con los desinfectantes que se utilizan habitualmente en los hospitales (solución de hipoclorito de 0,05% para la limpieza regular y de 0,5% para la desinfección de salpicaduras) (28). Hasta los momentos, la evidencia sugiere que el virus del COVID-19 es susceptible a desinfectantes con actividad comprobada contra virus envueltos, incluyendo hipoclorito de sodio (lejía por ejemplo, 1000 partes por millón [ppm] (0,1%), para la desinfección general de las superficies y 10.000 [ppm] (1%), para la desinfección de derrames de sangre u otras secreciones; 62-71% de etanol; 0,5% de peróxido de hidrógeno; compuestos de amonio cuaternario, y compuestos fenólicos, si se usan de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Se debe prestar especial atención no solo a la selección del desinfectante sino también al tiempo de contacto (por ejemplo, 10 minutos), la dilución (es decir, la concentración del ingrediente activo), y la fecha de vencimiento después que se prepara la solución de trabajo desinfectante. Es importante que el material incluyendo los desinfectantes empleados para la limpieza y desinfección de las superficies y derrames, se encuentren en adecuado suministro y fácilmente accesibles al personal encargado de dichas tareas, el cual debe estar adecuadamente capacitado para ello (26). Adicionalmente, las salas y el equipo pueden descontaminarse por fumigación con formaldehído gaseoso, que se obtiene calentando paraformaldehído o hirviendo formol. Este procedimiento es sumamente peligroso y debe ser realizado por personal especialmente adiestrado. Todas las aberturas del local (ventanas, puertas, entre otros), deben cerrarse con cinta adhesiva o un material análogo antes de que se desprenda el gas. La fumigación debe efectuarse a una temperatura ambiente de al menos 21 °C y una humedad relativa del 70%. Tras la fumigación, la zona debe ventilarse completamente antes de permitir la entrada de personal. Toda persona que entre en la sala antes de

la ventilación habrá de llevar mascarillas respiratorias apropiadas. Para neutralizar el formaldehído puede utilizarse bicarbonato amónico gaseoso. La fumigación de espacios reducidos con vapores de peróxido de hidrógeno también es eficaz, pero requiere equipo especializado para generar el vapor.

Además de la limpieza y descontaminación de las superficies y las instalaciones (incluido el mobiliario), también debe llevarse a cabo la limpieza y descontaminación de las Cámaras de Seguridad Biológicas. Para descontaminar las CSB de las clases I y II se dispone de aparatos autónomos que generan, ponen en circulación y neutralizan formaldehído gaseoso de forma independiente. Si no se dispone de ese equipo, debe colocarse la cantidad apropiada de paraformaldehído (concentración final de 0,8% de paraformaldehído en el aire), en una sartén sobre una placa eléctrica caliente. En una segunda placa caliente, también dentro de la cámara, se coloca otra sartén con bicarbonato amónico en una cantidad un 10% mayor que el paraformaldehído de la primera sartén. Ambas placas deben estar enchufadas fuera de la cámara para que se pueda controlar su funcionamiento desde el exterior. Si la humedad relativa es inferior al 70%, también debe colocarse una sartén con agua caliente en el interior de la cámara antes de sellar los bordes de la ventana frontal con cinta adhesiva fuerte (cinta aislante, por ejemplo). Sobre la abertura frontal y el orificio de evacuación se fija con cinta adhesiva una lámina de plástico grueso, con el fin de asegurar que el gas no pueda filtrarse a la sala. Los orificios de penetración de los cables eléctricos que pasan por la abertura frontal también deben cerrarse con cinta aislante. Se enciende la placa con la sartén de paraformaldehído y se apaga cuando se haya evaporado totalmente. La cámara se deja en reposo durante al menos 6 horas. Entonces se enciende la segunda placa y se permite que el bicarbonato amónico se evapore. En ese momento se apaga la placa y se enciende el ventilador de la CSB durante dos intervalos de unos dos segundos para permitir que el gas de bicarbonato amónico circule por el interior. La cámara se dejará en reposo durante 30 min antes de retirar el plástico de la abertura frontal y del orificio de salida de aire. Antes de volver a utilizar la cámara se limpiarán sus superficies con un paño para eliminar los residuos.

Por su parte, la desinfección de equipos, dispositivos y materiales del laboratorio se llevan 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 de 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. Hay distintos tipos de autoclaves: 1) de desplazamiento por gravedad; 2) de pre-vacío; y 3) de olla a presión calentados por combustibles. El autoclave de pre-vacío puede funcionar a 134 °C, por lo que el ciclo de esterilización puede reducirse a tres minutos. Son ideales para cargas de material poroso, pero no pueden utilizarse para tratar líquidos debido al vacío; mientras que el autoclave de olla a presión calentados por combustible, solo deben utilizarse si no se dispone de una autoclave de desplazamiento por gravedad. El material y los objetos que se vayan a esterilizar deben agruparse sin apretarlos en la cámara, de modo que el vapor pueda circular sin dificultad y el aire pueda salir fácilmente. Las bolsas deben permitir que el vapor penetre en su contenido. 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 (27).

### c. Descontaminación y eliminación de desechos

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 12 de febrero 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 (26).

De acuerdo con el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS (en inglés, *Manual Laboratory Biosafety*), se considera desecho todo aquello que debe descartarse. 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. Solo se recurrirá a otros métodos si éstos no eliminan o destruyen los microorganismos. Debe adoptarse un

sistema de identificación y separación del material infeccioso y sus recipientes. Se seguirán las normas nacionales e internacionales y se tendrán 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 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. Si se dispone de un incinerador en el laboratorio, no es necesario el tratamiento en autoclave. El material contaminado se coloca en recipientes especialmente marcados (por ejemplo, bolsas con un código de color) y se transporta directamente al incinerador. Los recipientes de transporte 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. La incineración de desechos contaminados deberá contar con la aprobación de las autoridades encargadas de la salud pública y la contaminación del aire, así como la del responsable de la bioseguridad del laboratorio (27).

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. 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 (27).

#### d. Personal

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 en su última versión por la OMS el 19 de marzo 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 (25).

#### 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 12 de febrero 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 (26).

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 (27).

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 (26).

## 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 (26).

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 12 de febrero 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 riesgo 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 “*Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19)*”; publicada el 12 de febrero de 2020, la cual se encuentra disponible en: [https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(COVID-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(COVID-19)) (26).

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 (26).

### 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 riesgos 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 la salud, incluidas las medidas específicas necesarias para proteger la salud y seguridad en el trabajo (32).

#### 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 (32).

## 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) Poseer 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 (32).

## e. Proceso de preanálisis

### 1. Solicitud del análisis

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*) (25), todas las muestras tomadas y recolectadas para la investigación de COVID-19 por el laboratorio, deben ir acompañadas de un formulario de solicitud. Según esta guía, el mencionado formulario debe cumplir con los requisitos del formulario de solicitud de análisis de la Norma ISO 15.189:2012. Laboratorio clínico- Requisitos para la calidad y la competencia (en inglés, ISO 15189:2012. *Medical Laboratories- Requirements for quality and competence*) (33);

asegurándose de incluir la siguiente información requerida para la vigilancia epidemiológica, de acuerdo con la guía “Vigilancia global para la infección humana causada por el virus de COVID-19” (en inglés, *Global surveillance for COVID-19 caused by human infection with COVID-19 virus*) (21): 1) Datos de la entidad solicitante: nombre de la institución de salud, dirección de la institución, número de teléfono de la institución, nombre del médico solicitante, dirección o localización del solicitante, número de teléfono de contacto del solicitante, definición del caso COVID-19 (sospechoso ó probable), y pruebas que se solicitan; 2) Datos del paciente: nombre del paciente, N° de identificación, fecha de nacimiento, edad, sexo, dirección y número de teléfono; 3) Datos de la muestra: tipo de muestra (hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo, lavado broncoalveolar, aspirado endotraqueal, aspirado nasofaríngeo, lavado nasal, esputo, tejido pulmonar, sangre completa, suero, orina, heces, otro); origen de la muestra (muestra de paciente vivo o muestra postmortem); fecha de recolección de la muestra, hora de recolección de la muestra y estado de prioridad del análisis; 4) Información clínica/epidemiológica relevante del paciente: síntomas que presenta el paciente, fecha de inicio de los síntomas, información de tratamientos antimicrobianos recibidos (tipo de tratamiento y fecha de cumplimiento), historia de viaje reciente del paciente a un área afectada (indicar si o no, y en el caso afirmativo indicar país al que viajó y fecha de retorno del viaje), e historia de contacto reciente con un caso confirmado (indicar si o no, o si desconoce). Este formulario también debe indicar al personal de la salud, encargado de la recolección de muestras, las siguientes recomendaciones en forma de notas: “todos los especímenes recolectados deben ser tratados como potencialmente infecciosos”, “debe contactar al laboratorio para la referencia antes del envío de las muestras”, y “todas las muestras deben ser enviadas al laboratorio como “Sustancias biológicas, Categoría B”, de acuerdo con los requisitos de la guía sobre Reglamentación Relativa al Transporte de Sustancias Infecciosas de la OMS 2019-2020 (21). La OMS presenta en el Anexo I de la guía “*Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases*”, un modelo de formulario de solicitud de análisis de muestras por el laboratorio para investigación de COVID-19, el cual se encuentra disponible en: <https://www.who.int/emergencias/>

diseases/novel-coronavirus-2019/technicalguidance/laboratoryguidance (25).

## 2. Toma y recolección de muestra

De acuerdo con la guía “Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19”, las muestras recomendadas para la investigación de COVID-19 son las muestras respiratorias del tracto respiratorio inferior, incluidos el esputo, el lavado broncoalveolar y el aspirado traqueal. Sin embargo, cuando la toma de una muestra del tracto respiratorio inferior no es posible o inconveniente, las muestras del tracto respiratorio superior también son útiles (4). Por ello, 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*), recomienda como mínimo recolectar muestras de las vías respiratorias superiores, como el hisopado nasofaríngeo u orofaríngeo, así como muestras de las vías respiratorias inferiores como esputo (si se ha producido), aspirado endotraqueal o nasofaríngeo, y lavado broncoalveolar en pacientes con enfermedad respiratoria más grave (25).

En un paciente con sospecha de COVID-19, especialmente si presenta neumonía o un cuadro grave, una única muestra de las vías respiratorias inferiores no permite descartar el diagnóstico, por lo que se recomiendan muestras adicionales de las vías respiratorias superiores e inferiores. Es muy probable que las muestras de las vías respiratorias inferiores arrojen resultados positivos y durante un periodo de tiempo más largo que las de las vías superiores. Los profesionales pueden decidir recolectar solo muestras de las vías respiratorias inferiores si les resulta fácil obtenerla (como por ejemplo, cuando el paciente se encuentra en ventilación mecánica), teniendo en cuenta evitar la inducción de expectoración debido a que representa un mayor riesgo de transmisión de COVID-19 por aerosoles (13,14).

En pacientes fallecidos también se puede recibir material de autopsia como tejido pulmonar o de otra parte del tracto respiratorio. Al igual que el SARS-CoV y MERS, el virus SARS-CoV-2 se ha detectado en sangre y heces, por lo que estas muestras adicionalmente podrían llegar al laboratorio para la investigación de COVID-19, sin embargo, no son las muestras de elección para la detección molecular del virus. En el caso de pacientes sobrevivientes, el análisis de muestras de suero, una en fase aguda de la infección (la primera

semana de haber iniciado los síntomas), y otra en fase convaleciente (entre la segunda y cuarta semana luego de haber iniciado los síntomas), resulta útil para definir casos retrospectivamente, cuando existe disponibilidad de pruebas de inmunodiagnóstico serológico (25).

En el caso de pacientes confirmados con COVID-19, el laboratorio puede recibir muestras repetidas de las vías respiratorias altas y bajas para comprobar la eliminación del virus. Para dar el alta médica a un paciente clínicamente recuperado se recomienda que existan dos pruebas moleculares negativas separadas por un mínimo de 24 horas (13,14).

Según la guía “Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19”, las muestras para investigación de COVID-19 deben ser tomadas, recolectadas, conservadas, embaladas y transportadas por personal capacitado y completamente competente para la ejecución de los procedimientos técnicos y de bioseguridad a seguir durante todo el proceso. En particular, este personal debe aplicar una higiene adecuada de manos, así como usar el equipo de protección personal pertinente, el cual debe incluir bata manga larga (impermeable a los fluidos, sino adicionalmente debe utilizar delantal impermeable), guantes, respirador (N95, FFP2 o su equivalente), y protección para los ojos (gafas) o faciales (protector facial) (4).

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*), para la toma de muestras nasofaríngeas u orofaríngeas, se deben utilizar hisopos de dacrón o poliéster flocado estéril, no algodón, y como contenedor emplear medios de transporte para virus (con suplementos antimicóticos y antimicrobianos), o en su defecto cuando éste no se encuentre disponible, utilizar medios con solución salina estéril. En general se recomienda la toma de hisopados nasofaríngeos y orofaríngeos combinados (ambos hisopos deben colocarse y transportarse en el mismo tubo con medio de transporte viral. Por su parte, las muestras respiratorias provenientes de lavado o aspirado nasal, aspirado endotraqueal o nasofaríngeo, lavado broncoalveolar, así como esputo, deben recolectarse en contenedores estériles. El tejido de pulmón u otra parte del tracto respiratorio debe recolectarse en envase estéril con medio de transporte viral o solución salina estéril.

Las muestras de sangre completa deben recolectarse en tubos comerciales de extracción plásticos con anticoagulante EDTA (EDTA-K2), mientras que las muestras de sangre para la obtención de suero deben recolectarse en tubos comerciales de plástico, sin anticoagulante (con o sin procoagulantes), y con gel separador de suero. Así mismo, las muestras de orinas deben recolectarse en sus respectivos recolectores comerciales (25).

Según la orientación “Manejo clínico de la infección respiratoria aguda grave (IRAG) en caso de sospecha de COVID-19” (en inglés, *Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected*), en casos de infección por SARS-CoV, MERS y SARS-CoV-2, se han observado infecciones dobles (otras infecciones respiratorias víricas o bacterianas concomitantes). Por ello, es razonable que el laboratorio reciba adicionalmente solicitudes para investigar otros agentes infecciosos en las mismas muestras respiratorias y/o muestras adicionales como por ejemplo de sangre. Por su parte, las muestras de las vías respiratorias pueden analizarse para la detección de otros virus respiratorios, como los virus gripales A y B (incluidos los de la gripe A de origen zoonótico), el virus respiratorio sincicial, los virus paragripales, los rinovirus, los adenovirus, los enterovirus (por ejemplo, EVD68), los metaneumovirus humanos y los otros coronavirus humanos endémicos como los alfacoronavirus 229E (HCoV-229E) y NL63 (HCoV-NL63), y los betacoronavirus OC43 (HCoV-OC43) y HKU1 (HCoV-HKU1). Las muestras de las vías respiratorias bajas también pueden analizarse para la detección de bacterias patógenas como *Legionella pneumophila*. En zonas endémicas de paludismo, en los pacientes con fiebre hay que realizar pruebas de detección de paludismo u otras coinfecciones mediante pruebas de diagnóstico rápido validadas o pruebas de gota gruesa o gota fina. En las correspondientes zonas endémicas también puede solicitarse investigación de infección por arbovirus (dengue/chikunguya), para el diagnóstico diferencial de cuadros febriles inespecíficos, especialmente si existe trombocitopenia. También puede existir coinfección por dengue y COVID-19, por lo que un resultado positivo para el dengue (obtenido, por ejemplo, mediante una prueba de diagnóstico rápido), no implica que no deban hacerse pruebas de COVID-19 (13,14). Teniendo en cuenta lo anterior, es importante enfatizar que un resultado positivo para microorganismos patógenos distintos del

virus SARS-CoV-2, no es excluyente el diagnóstico de COVID-19; por lo que todos los pacientes que cumplan con la definición de caso sospechosos deben analizarse para detectar COVID-19, independientemente si se encuentra algún otro patógeno respiratorio (25). Además, es pertinente acotar que para en aquellos casos de infección mixta, en los que se deban investigar otros agentes infecciosos en las mismas muestras respiratorias y/o muestras adicionales como por ejemplo de sangre; el responsable de la toma y recolección, recolecte suficiente material biológico de los pacientes, a fin que el laboratorio pueda llevar a cabo eficazmente tales investigaciones sin requerir nuevas tomas de muestras (3).

### 3. Identificación de la muestra

De acuerdo con la guía “Pruebas de laboratorio para el nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV), en casos sospechosos de infección en humanos”, las muestras para la investigación de COVID-19 deben identificarse mediante etiquetas resistentes a refrigeración adheridas al contenedor primario, que contengan al menos los siguientes datos: 1) Datos del paciente: nombre, N° de identificación, fechas de nacimiento, edad y sexo; 2) Datos de la muestra: tipo de muestra, en relación al sitio anatómico y localización de su recolección; origen de muestra (muestra de paciente vivo o muestra postmortem), fecha de recolección, hora de recolección y estado de prioridad del análisis. Como se mencionó anteriormente, la muestra debe ir acompañada de un formulario de solicitud; y en el caso de que vaya a ser utilizadas para fines investigativos, de un consentimiento informado debidamente validado y aprobado por el Comité de Bioética de la institución sanitaria, así como debidamente firmado por el paciente o su tutor, antes de la recolección de la muestra (3).

### 4. Conservación de la muestra

Según las “Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus de COVID-19” y 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*); las muestras para la investigación de COVID-19 deben llegar al laboratorio tan rápido como sea posible luego de su recolección (25). Cuando las muestras deben 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 al laboratorio, asegurando que se mantenga la cadena de frío (4). 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 (25). 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 (4). Por su parte, las muestras de lavado broncoalveolar, aspirado nasofaríngeo o endotraqueal, aspirado o lavado nasal, y el esputo; las muestras se pueden conservarse entre 2-8 °C hasta por 2 días o menos. Luego de 2 días, deben conservarse en hielo seco a -70 °C. En relación al tejido de pulmón u otra parte del tracto respiratoria, pueden conservarse entre 2-8 °C hasta 24 horas o menos. Luego de 24 horas, deben conservarse en hielo seco a -70 °C. Cuando se requiera la investigación de COVID-19 en muestras de sangre completa, suero, heces u orina, las muestras se pueden conservarse entre 2-8 °C hasta por 5 días o menos. Luego de 5 días, deben conservarse en hielo seco a -70 °C. Es importante que en todos los casos, se evite congelar y descongelar repetidamente las muestras conservadas (25).

## 5. Embalaje y envío de la muestra

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. Las muestras de pacientes son productos o materiales que se recolectan directamente de seres humanos o animales con el propósito de realizar investigaciones o diagnósticos. También pueden denominarse “muestras de pacientes”, “especímenes de diagnóstico” o “muestras de diagnóstico”. Ejemplos de tales muestras son los fluidos corporales (por ejemplo, excrementos, secreciones y sangre o productos sanguíneos); y tejidos o partes del cuerpo colectados en contenedores, en frascos o inmersos en medios conservantes. Al igual que con los cultivos, si la muestra del paciente contiene agentes biológicos capaces de causar enfermedades en humanos o animales, se definirá como una sustancia infecciosa. Según su composición, del tipo de agente

biológico presente y de la gravedad o el daño que pueda causar dicho agente biológico, los cultivos y las muestras de pacientes, pueden clasificarse como sustancias infecciosas Categoría A o B. 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*”) (34).

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)*); 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. Mientras que, los cultivos y aislamientos virales deben transportarse como un UN2814 “Sustancia infecciosa, Categoría A” (26).

Cuando un paquete de sustancias infecciosas se transporta entre el punto de origen, las unidades de transporte de carga, los almacenes y su destino, puede estar sujeto a desafíos, entre las que se incluyen son: el movimiento, las vibraciones, los cambios de temperatura, la humedad y la presión. Por lo tanto, es

esencial que el embalaje/ensado utilizado para el envío de sustancias infecciosas sea de buena calidad y lo suficientemente resistente como para soportar los distintos problemas a los que se puede enfrentar. Por lo tanto, las sustancias infecciosas deben estar dentro de un sistema de embalaje/ensado de tres capas, en el que se puedan utilizar capas redundantes de embalaje/ensado y cantidades suficientes de material absorbente para controlar las fugas o las filtraciones de la contención.

La Reglamentación Modelo de las Naciones Unidas, así como otros acuerdos modales, proporcionan hojas de información que describen los requisitos detallados de embalaje/ensado para diversas clasificaciones y subclasificaciones de mercancías peligrosas. Estas hojas de instrucciones se denominan generalmente “instrucciones de embalaje/ensado”, y tres de ellas pueden ser aplicables al envío de sustancias infecciosas: 1) P620 para las sustancias infecciosas de categoría A asignadas con el N° UN 2814; 2) P650 para las sustancias infecciosas de categoría B asignadas con el N° UN 3373; y 3) P621 para desechos médicos o clínicos contaminados con una sustancia infecciosa de categoría B (asignada al N° UN 3921).

Cualquier sistema de embalaje/ensado triple utilizado para contener una sustancia infecciosa 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/ensado (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/ensado. Si es necesario, estos documentos se pueden pegar con cinta adhesiva en el embalaje/envase secundario.

Las estipulaciones descritas en la instrucción P650, además del sistema básico de embalaje/ensado triple, incluyen lo siguiente: 1) Para el transporte de superficie, el embalaje/envase secundario o exterior deberá ser rígido; es decir, si el embalaje/envase exterior es blando, el embalaje/envase secundario deberá ser rígido, o si el embalaje/envase secundario es blando, el embalaje/envase exterior deberá ser rígido. Esta última es la medida más utilizada, ya que para el transporte aéreo siempre se requiere un embalaje/envase exterior rígido. 2) El embalaje/ensado triple completo deberá ser capaz de superar un ensayo de caída de 1.2 m, para demostrar que

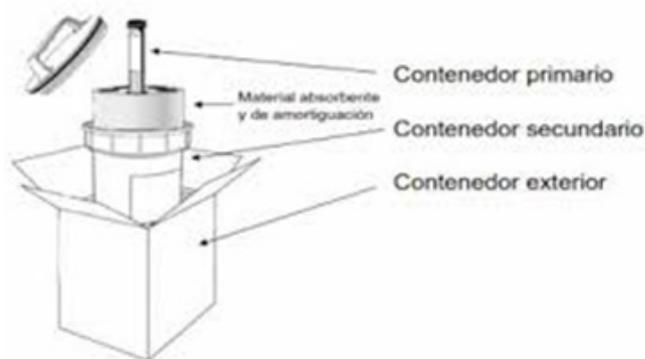


Figura 1: Triple empaque para el transporte de sustancias infecciosas

Fuente: Manual de bioseguridad básico en el laboratorio. 3era edición. Ginebra: WHO; 2005. Disponible en: [http://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_biosegu...](http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_biosegu...)

cuenta con la resistencia y calidad adecuadas. 3) El recipiente primario o el embalaje/envase secundario deberán ser capaces de soportar una presión interna de 95 kPa (0,95 bar). Esto deberá ser verificado utilizando una metodología apropiada según el tipo de recipiente o embalaje/envase que se utilice (por ejemplo, manómetros hidráulicos o neumáticos internos, o ensayo de vacío externos) (34).

## 6. Entrega y recepción de la muestra

De acuerdo con 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*), previamente a la entrega de la muestra al laboratorio, se debe notificar su envío lo más antes (28); alentando al laboratorio a su procesamiento e informe confiable y oportuno (25). Las muestras deben entregarse directamente en mano siempre que sea posible, no debe utilizarse bajo ningún motivo el sistema de tubos neumáticos para transportar este tipo de muestras (28). Así mismo, 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)*), indica que las muestras recibidas por el laboratorio deben estar correctamente identificadas y acompañadas del formulario de solicitud completo y correctamente lleno con los datos e información clínica pertinente del centro asistencial, solicitante, paciente y muestra. El personal encargado de recibir y desempacar las muestras, debe estar capacitado y completamente competente para la ejecución de los procedimientos técnicos y de bioseguridad a seguir durante todo el proceso, incluso en caso de que los contenedores estén rotos o tengan fugas, y se produzcan derrames o fuga de la muestra. En particular, este personal debe aplicar una higiene adecuada de manos, así como usar el equipo de protección personal pertinente, el cual debe incluir bata manga larga, guantes, mascarilla, y protección para los ojos (gafas) o faciales (protector facial). Las muestras recibidas por el laboratorio deben ser desempacadas por el personal en la CSB, y adicionalmente, todas las muestras que salgan de la CSB deben descontaminarse en su superficie. Además, todos los materiales transportados dentro y entre los laboratorios; como por ejemplo cuando se transfiere material de la CSB a una incubadora y viceversa; deben colocarse en un contenedor secundario, para minimizar la posibilidad de rotura

o derrame; como por ejemplo en una bolsa estanca o impermeable con cierre hermético. Si la muestra es líquida o semilíquida, el recipiente primario se debe envolver en material absorbente antes de introducir en el contenedor secundario (26).

## 7. Envío de muestras a laboratorios de referencia

De acuerdo con la guía “Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19”; cuando el país no tiene capacidad de diagnóstico molecular para llevar a cabo la detección del virus COVID-19, deben enviar muestras clínicas sospechosas, que se ajusten estrictamente a la definición del caso, a un laboratorio de referencia internacional. La OMS cuenta con una lista de laboratorios de referencia internacionales, en la que se incluyen 17 laboratorios (7 en Asia, 5 en Europa, 2 en África, 2 en América y 1 en Oceanía). En la Región de las Américas, los dos laboratorios 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).

Según la “Orientación para laboratorios que envían muestras a Laboratorios de Referencia de la OMS, que proporcionan pruebas confirmatorias para detectar el virus COVID-19” (en inglés, *Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus*), publicada en su última versión el 02 de marzo de 2020, se recomienda contactar a la OMS antes de remitir cualquier muestra sospechosa COVID-19. Para llevar a cabo este contacto, primeramente los laboratorios deben completar el “Formulario de reserva de envío para COVID-19” (en inglés, *Shipment booking form for COVID-19*), el cual solicita datos e información de: 1) Información del formulario de reserva de envío (fecha del llenado, número de páginas, lugar desde donde se realiza el envío, por donde se realizó el envío del formulario, por correo electrónico o Fax; 2) Información para la recogida de la muestra por la OMS: a) Persona que se contactará para la recogida de la muestra a enviar (nombre, número de teléfono, dirección electrónica); b) Lugar de recogida de la muestra (nombre del laboratorio, dirección, ciudad, país, código postal, número de teléfono, dirección de

correo electrónico); c) Lugar de envío (especificar laboratorio de la lista de la OMS a donde se quiere enviar la muestra); 3) Detalles del envío: a) Tipo de muestra a enviar (Sustancia biológica, categoría B, (NU 3373) en hielo seco; Sustancias infecciosas que afectan a los humanos, categoría A, (NU 2814) en hielo seco, u otra); b) Número de viales y mililitros que se envía; c) Número de contenedores y tamaños. Este formulario lleno debe hacerse llegar a la OMS a través de un correo electrónico dirigido a Mensajería Mundial “World Courier”, en Ginebra, Suiza (opsgva@worldcourier.ch), con copia a todo el personal de la OMS que figura en el Formulario de reserva de envío para COVID-19 (Equipo de laboratorio de emergencia (whelab@who.int); Sr. Christian Fuster (Programa Global de Influenza) (fusterc@who.int); Sr. José Rovira (Preparación para eventos de alto impacto) (roviraj@who.int) y Punto Focal Regional de la OMS que corresponda). Luego, el equipo de mensajería “World Courier”, o un representante de un agente local, se comunicará con el laboratorio para organizar la recolección de la muestra lo antes posible, e indicar cualquier otra instrucción relacionada al envío. El agente de mensajería proporcionará todo el embalaje, etiquetado y documentación necesarios para cumplir con las regulaciones internacionales de transporte. También proporcionará hielo seco si el laboratorio solicita el envío “congelado” en el formulario de reserva de envío de muestra para COVID-19. Las muestras clínicas (no propagadas) de casos sospechosos o confirmados de COVID-19 se asignan como NU 3373, mientras que las Sustancia biológica, Categoría B, como NU 2814. Por su parte, el laboratorio de envío debe completar la documentación antes de que el agente pueda aceptar el paquete para su envío: 1) El formulario de reserva completado, 2) Una lista de empaque / factura que indique la dirección del destinatario, número de paquetes, detalles de contenido incluyendo peso y valor (para el transporte internacional, se requiere un valor mínimo incluso si los artículos se proporcionan de forma gratuita); 3) Un permiso de exportación para el país de origen, según corresponda; 4) Un permiso de importación para el país receptor según corresponda; 6) Cualquier otro documento solicitado por la normativa nacional para la importación de sustancias infecciosas; y 7) Una factura de la vía aérea de la casa (HWB), que será proporcionado por el agente de mensajería. Los costos de los envíos solo serán cubiertos por

la OMS cuando estos se realicen estrictamente de acuerdo con las instrucciones de la OMS, incluido el uso exclusivo de correos designados. La OMS no acepta el reembolso de costos o facturas de envíos de laboratorios que no siguen el proceso descrito apropiadamente (35).

#### g. Proceso de análisis

El 10 de enero de 2020, se publicaron los datos de secuenciación genética del SARS-CoV-2 (para ese entonces 2019-nCoV), obtenidos mediante la aplicación de técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) (del inglés, Next Generation Sequencing) de virus, en muestras de pacientes infectados, confirmando que el virus de la neumonía de Wuhan, era un nuevo virus del género betacoronavirus, de la familia *Coronaviridae* (2,3,4).

Los coronavirus son un grupo de virus ARN monocatenario, altamente diversos de la familia *Coronaviridae*, los cuales se dividen en 4 géneros (alfa, beta, gamma y delta), y 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, y el coronavirus causante del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SRAS-CoV) (del inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus*), surgido en 2002-2003 (3,4).

Los datos de la secuencia genómica completa del virus causante de la neumonía de Wuhan (para ese entonces 2019-nCoV), fueron compartidos oficialmente con la OMS y publicados 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*) (3). Para ese entonces, disponer de la secuenciación del genoma, permitió conocer que este virus pertenece al subgénero *Sarbecovirus*, y está relacionado con el coronavirus asociado al SARS (SARS-CoV), que causó un brote de Síndrome Respiratorio Agudo

Grave (SARS), entre el 2002 y 2003, en Catón, China; sin embargo, no es el mismo virus (9).

La secuencia genética publicada el 10 de enero de 2020, sirvió de base para el desarrollo de pruebas moleculares y otras pruebas para la investigación de COVID-19 en el laboratorio, por diversos proveedores en el mundo (3).

Según las “Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19”, las muestras para investigación de COVID-19 en el laboratorio, deben ser manipuladas y procesadas por personal capacitado y completamente competente para la ejecución de los procedimientos técnicos y de bioseguridad durante todo el proceso (4). En particular, según 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 08 de marzo de 2020; este personal debe aplicar una higiene adecuada de manos, y usar el equipo de protección personal pertinente, el cual debe incluir bata manga larga, guantes, mascarilla médica y gafas protectoras (17).

### 1. Métodos moleculares

De acuerdo con la OMS, 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, RT-qPCR*); con confirmación mediante Secuenciación del Ácido Nucleico (en inglés, *Nucleic Acid Sequencing*), cuando sea necesario (3).

Según las “Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19”, la extracción de ARN viral de las muestras de pacientes para su posterior ensayo molecular, se realiza utilizando cualquier protocolo estándar dentro de la Cámara de Seguridad Biológica clase II. En general, la etapa de lisis de la muestra durante la extracción de ARN inactiva cualquier virus, inclusive el virus COVID-19; por lo tanto, las

muestras después de la lisis durante la extracción del ARN, pueden considerarse generalmente como no infecciosas. Es importante acotar que las muestras de esputo requieren licuefacción antes de la extracción molecular, mientras que las muestras de tejido del tracto respiratorio requieren lisis y luego homogenización. No se recomienda tratamiento térmico de las muestras antes de la extracción de ARN. Una vez aislado el ARN viral se procede a llevar a cabo en ensayo de diagnóstico molecular mediante una técnica de amplificación del ácido nucleico (4).

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 RT-qPCR (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 Infecciosas

Tabla 2. Resumen de los protocolos disponibles para la detección molecular de COVID-19, sugeridos por la OMS.

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>.

de China del 24 de enero de 2020 (en inglés, *Chinese of Center for Disease Control 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, 36).

Todos los protocolos de trabajo de estas pruebas moleculares sugeridos por la OMS para la identificación 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](https://www.who.int/docs/defaultsource/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf?sfvrsn=de3a76aa_2) (36).

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, 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, 37). 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 (o “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/> (38).

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 (39). El 07 de abril de 2020, 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 “*Genesig Real-Time PCR Coronavirus*

(COVID-19)” de Primerdesign (Reino Unido), la cual es una prueba para sistema abierto, adecuada para laboratorios con capacidad de pruebas moderada, y la prueba cobas SARS-CoV-2, 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 más amplia (40,41).

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 sin circulación conocida del virus del 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; 4) Se insta a los laboratorios a buscar la confirmación de cualquier resultados inesperado en un laboratorio de referencia internacional de la OMS (25).

Así mismo, 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 RT-qPCR de un solo objetivo discriminatorio se considera suficiente (25). Aunque la recomendación para la confirmación de casos en el laboratorio es detectar dos marcadores genéticos diferentes (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 TR-qPCR 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); 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: 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); b) La muestra se recogió tarde o muy temprano en la infección (25). La muestra se recolectó en un momento en que el paciente no estaba secretando cantidades suficientes de virus, por ejemplo, muy temprana o tardíamente durante la infección; c) La muestra fue manipulada, transportada y/o almacenada inapropiadamente; d) Extracción de muestra deficiente/fallida (como control, se puede usar un control de extracción o la detección de un constitutivo como se mencionó anteriormente) (4); e) Otras razones técnicas inherente a la prueba, por ejemplo, mutación del virus o inhibición del PCR (25). 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.

La detección molecular del virus causante de COVID-19 utilizando protocolos bien diseñados y ejecutados suele ser muy verás y específica; por lo tanto, un resultado positivo confirma la detección del virus (4). Sin embargo, se alienta

a los laboratorios a implementar en cada técnica de amplificación de ácidos nucleicos controles de calidad internos, tanto positivos como negativos, así como a participar activamente en programas de evaluación externa de la calidad, cuando estos se encuentren disponibles; a fin soportar y mantener la confiabilidad de los resultados de estas pruebas. Adicionalmente; se recomienda a los laboratorios que ordenen sus propios cebadores y sondas para realizar prueba/validación de funcionalidad y contaminantes potenciales. Por otra parte, un resultado negativo no siempre significa la ausencia de infección por el virus causante de COVID-19. Si se obtiene un resultado negativo de un paciente con un alto índice de sospecha de infección por el virus causante de COVID-19, particularmente 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 COVID-19 (25).

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 (42). Este algoritmo involucra la investigación molecular de objetivos genéticos para virus de influenza 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* (43).

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 (18,25), 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, entre otros. Muchas bases de datos de acceso público para publicar estas secuenciaciones se encuentran disponibles, incluyendo GISAID (25), 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; la cual asegura que los contribuyentes de datos de secuencias genéticas de influenza, 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*), disponible en: [https://www.who.int/blueprint/what/normsstandards/GSSDDraftCodeConduct\\_forpublicconsultation-v1.pdf?ua=1](https://www.who.int/blueprint/what/normsstandards/GSSDDraftCodeConduct_forpublicconsultation-v1.pdf?ua=1) (44).

## 2. 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 (45). Hasta los momentos, la OMS no ha validado ninguno de estos ensayos, y recomienda que estas pruebas sean empleadas solamente en entornos de investigación, mientras que la confirmación de casos y diagnóstico de COVID-19, se realice a través de pruebas moleculares (18).

### a. Detección de antígenos

Según las “Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19”, existe en el mercado diferentes ensayos inmunológicos, capaces de detectar proteínas virales que pueden estar presente en las muestras respiratorias (por ejemplo, esputo, hisopo nasofaríngeo u orofaríngeo, etc.) de los

pacientes luego del inicio de los síntomas (1 a 5 días aproximadamente) de 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), inmunofluorescencia, y otras, así como métodos inmunológicos rápidos fundamentados en técnicas de inmunocromatografía.

En relación a las pruebas rutinarias, presentan una especificidad aceptable en líneas generales. Sin embargo, en relación a su sensibilidad, debido a que aún no se ha establecido con certeza la dinámica de expresión de estas proteínas antigénicas, un resultado negativo, en cualquier estadio de infección, no debe ser usado como criterio para descartar un caso, y por lo tanto, otros criterios clínicos y epidemiológicos, deben considerarse para tomar decisiones médicas y epidemiológicas. Por su parte las pruebas rápidas, tienen sensibilidades más bajas en comparación a los métodos rutinarios. La sensibilidad de estas pruebas es afectada no solo por factores inherentes a la muestra en relación a una dinámica de secreción de proteínas antigénicas virales no establecida por completo, sino además por factores internos relacionadas al diseño de las pruebas (4); en relación a que debe existir una concentración suficientemente alta de estas proteínas en la muestra del paciente, para que la prueba resulte positiva, lo que ocurre solo durante la replicación activa del virus durante la infección aguda o temprana. Además, se deben tener en cuenta otros factores que afectan la sensibilidad de estas pruebas como por ejemplo la calidad de la muestra recolectada y del proceso de su preparación para el análisis (47).

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 tiene una sensibilidad que varía entre el 34 y 81%; lo que conlleva a que la mitad o más de la mitad de los pacientes infectados con SARS-CoV-2, podrían pasar desapercibidos en cualquier despistaje realizado con estas pruebas. Por ello, la OMS recomienda la investigación del rendimiento y utilidad diagnóstica del potencial de estos ensayos, a fin de que aquellas

que demuestren un óptimo desempeño, puedan usarse como pruebas de triaje para identificar rápidamente a los pacientes COVID-19, reduciendo o eliminando la necesidad de realizar costosas pruebas de confirmación molecular (47).

## b. Detección de anticuerpos

Según las “Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el Virus COVID-19”, existe en el mercado diferentes ensayos inmunológicos, capaces de detectar anticuerpos IgM y/o IgG contra el virus causante de COVID-19, que están presentes en el plasma o suero de los pacientes a partir de la fase convaleciente de la infección, entre la segunda y cuarta semana luego del inicio de los síntomas. 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), inmunofluorescencia, y otras, así como métodos inmunológicos rápidos fundamentados en técnicas de inmunocromatografía.

En relación a las pruebas rutinarias, la especificidad está afectada por reacciones cruzadas a causa de la presencia de anticuerpos dirigidos contra otros coronavirus causantes de infecciones humanas y zoonóticas. Por su parte, la sensibilidad está afectada ya que en la actualidad la dinámica de la respuesta y producción de anticuerpos durante las diferentes fases de la infección no está completamente establecida (4).

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, la gravedad de la enfermedad y ciertos medicamentos o infecciones como el VIH que inhiben el sistema inmunitario; por ello, en algunas personas confirmadas COVID-19 mediante pruebas moleculares, se han evidenciado respuestas de anticuerpos débiles, tardías o ausentes (47). 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 de anticuerpos neutralizantes en la sangre, lo que sugiere que la inmunidad celular también puede ser crítica para la recuperación de la infección por SARS-CoV-2 (48). Adicionalmente, otros estudios demuestran que más del 60% de los pacientes no presentan anticuerpos detectables durante los primeros 7 días luego del inicio de síntomas, es decir, producen anticuerpos detectables sólo luego de la segunda semana después de iniciado los síntomas; por lo que estos ensayos no deben ser usado como criterio para descartar un caso, sobretodo en la fase aguda de la infección, y por lo tanto, otros criterios clínicos y epidemiológicos, deben considerarse para tomar decisiones médicas y epidemiológicas (4). Esto significa que un diagnóstico de COVID-19 basado en la respuesta 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 (47). Adicionalmente, 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 otra parte, la detección de anticuerpos 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 (4). Por ello, los ensayos basados en la detección de anticuerpos IgM y/o IgG no deben ser empleados en la identificación de casos y diagnóstico de COVID-19, pero pueden ayudar a investigar un brote en curso y a realizar estudios de seroprevalencia, para conocer la extensión del brote, si se consideran muestras pareadas, una recolectada en la fase aguda (durante la primera semana de haber iniciado los síntomas), y otra recolectada durante la fase convaleciente (a partir de la tercera semana de haber iniciado los síntomas), de los casos bajo investigación (3). También es posible, que en los casos donde los ensayos de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos resulten negativo, pero existe un fuerte vínculo clínico y epidemiológico con la infección por el virus causante de COVID-19, las muestras de suero pareadas puedan ayudar al diagnóstico (25).

Según la OMS, las pruebas para detectar respuestas

de anticuerpos contra el virus causante de COVID-19 en la población, son críticas para apoyar el desarrollo de vacunas y para aumentar la comprensión acerca del alcance de la infección entre las personas que no se identifican a través de la búsqueda activa de casos y los esfuerzos de vigilancia, la tasa de ataque en la población y la tasa de mortalidad por infección. Sin embargo, para el diagnóstico, la OMS no recomienda el uso de estas pruebas, puesto que tienen una utilidad limitada, ya que no pueden diagnosticar rápidamente una infección aguda para informar y tomar acciones clínicas y epidemiológicas pertinentes de forma oportuna (47).

## h. Proceso postanálisis

### 1. Informe de resultados y casos

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); el informe de resultados de pacientes COVID-19, debe como mínimo incluir los datos e información contenida en el formulario de solicitud, así como cumplir con los requisitos legales nacionales, y de la Norma ISO 15.189:2012 (25).

En relación a la presentación de los informes de casos, según la guía “Pruebas de laboratorio para el nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV), los laboratorios deben cumplir con los requisitos nacionales en materia de presentación de informes de casos, que en líneas generales en casi todos los países, indican que los casos sospechosos deben notificarse a las autoridades de salud pública competentes tan pronto como el laboratorio reciba una muestra, antes incluso de realizar ninguna prueba. Todos los resultados de las pruebas, ya sean positivos o negativos, deben comunicarse igualmente y de forma inmediata a las autoridades nacionales. Si la infección se generaliza, los laboratorios deben notificar inmediatamente a las autoridades de salud pública cada nuevo caso confirmado o cada nueva prueba de detección positiva, cuando las pruebas de confirmación supongan una demora. Los laboratorios también deben comunicar periódicamente a las autoridades de salud pública el número de resultados negativos que se hayan obtenido en las pruebas. La detección de posibles casos de infección en humanos por un patógeno emergente que cause una enfermedad

respiratoria aguda grave debe notificarse inmediatamente a las autoridades de salud pública de ámbito local, subnacional y nacional. Ello permitirá a las mencionadas autoridades adoptar decisiones inmediatas sobre el inicio de la investigación y el alcance de las medidas de respuesta. La detección de un caso de ese tipo debe servir para activar la notificación a los proveedores tradicionales y no tradicionales de atención de salud, a los hospitales y centros ambulatorios y a los líderes comunitarios de la zona en la que vivían o se encontraban de viaje los pacientes, como parte de los esfuerzos activos de detección de casos (3).

Por su parte, las autoridades sanitarias nacionales, de conformidad con la tercera edición del Reglamento Sanitario Internacional (RSI) (2005); están obligados a notificar a la OMS, en un plazo de 24 horas, todos los eventos que puedan constituir una emergencia de salud pública de importancia internacional, de acuerdo a los criterios establecidos en el instrumento de decisión dispuestos en el Anexo I del mencionado reglamento (46).

De acuerdo con la guía “Vigilancia global para COVID-19 causada por la infección humana con el virus de COVID-19” (en inglés, *Global surveillance for COVID-19 caused by human infection with COVID-19 virus*), a efectos de informe de casos, la OMS solicita que las autoridades nacionales notifiquen los casos probables y confirmados de COVID-19, proporcionando los datos e información requeridos en el “Formulario revisado de informe de caso confirmado COVID-19” (en inglés, *Revised case report form for Confirmed COVID-19*), a través del Punto Focal Nacional y el Punto de Contacto Regional para el Reglamento Sanitario Internacional en la Oficina Regional de la OMS correspondiente (21). Este formulario permite registrar datos e información referida a: 1) El país informante y la razón por la cual fue realizada la prueba para COVID-19 en el paciente (si fue porque el paciente fue a buscar atención médica por sospecha de COVID-19, es un contacto, se encontraba en un punto de entrada al país, fue repatriado, fue un hallazgo a través del sistema de vigilancia de enfermedad respiratoria rutinaria como por ejemplo de influenza u otra razón); 2) Sección 1. Información del paciente: a) N° identificador del nuevo caso; b) edad; c) fecha de nacimiento; d) sexo; e) lugar y provincia del país en que fue diagnosticado, y g) lugar y país de residencia; 3) Sección 2. Estatus clínico: a) Fecha de la primera

confirmación por laboratorio; b) Si había algún síntoma al momento de la recolección de la muestra; c) fecha del inicio de los síntomas; d) Condiciones subyacentes y comorbilidades presentes (especificar si preexiste embarazo, enfermedad cardiovascular incluyendo hipertensión, diabetes, enfermedad hepática, enfermedad neurológica o neuromuscular, post parto, inmunodeficiencia incluyendo HIV, enfermedad renal, enfermedad pulmonar crónica o cáncer); e) Estatus de salud al momento del reporte (especificar si el paciente se encuentra ingresado en un centro de atención médica o si está aislado, fecha del ingreso al centro o de inicio del aislamiento; si en el centro de atención médica ha recibido atención en Unidad de Cuidados Intensivos, ventilación mecánica y/o oxigenación extracorpórea; 4) Sección 3. Riesgo de exposición en los 14 días previos al inicio de los síntomas: a) Si es un trabajador de atención médica especificar país, ciudad y nombre de la institución; b) Si ha viajado en los 14 días previos al inicio de los síntomas especificar el país, ciudad, fecha de entrada y de salida al lugar; c) Si ha visitado alguna instalación de atención médica en los 14 días previos al inicio de síntomas especificar país, ciudad, nombre de la institución y fecha de la visita; y d) Si ha tenido contacto con un caso confirmado o probable especificar identidad del contacto y fecha del último contacto; 5) Sección 4. Resultados (complete y reenvíe el formulario completo tan pronto como se conozca el resultado de la enfermedad o después 30 días después del informe inicial: a) Fecha de elaboración/envío del informe; b) Si el caso era asintomático al momento de la recolección de la muestra y su confirmación, especificar si el paciente desarrolló algún signo o síntoma en cualquier momento antes del alta o la muerte, y cual es fecha del inicio de esos signos y síntomas; c) Si el caso fue ingresado a un centro de atención médica especificar fecha de ingreso y si ha recibido atención en Unidad de Cuidados Intensivos, ventilación mecánica y/o oxigenación extracorpórea, d) Estatus de salud, especificar si el paciente está recuperado/saludable, no recuperado, fallecido o se desconoce; e) Fecha de alta del aislamiento/cetro de atención médica o fallecimiento; f) Si salió de alta de aislamiento/cetro de atención médica especificar la fecha del alta y la fecha de la realización de la última prueba de laboratorio para COVID-19 realizada; g) N° total de contactos seguidos por este caso (47).

De acuerdo con la OMS, la autoridad sanitaria debe

llenar las primeras 3 secciones del formulario y enviar dentro de las 48 horas posteriores a la identificación de cada caso. Luego cuando se tenga disponibilidad de los datos e información pertinente a la “Sección 4” referida al “Resultado”, se debe proporcionar una actualización del informe del caso, tan pronto como los datos estén disponibles dentro de los 30 días posteriores al envío del primer informe.

Según la OMS, cuando ya no es factible informar datos basados en informes de casos, se solicita a los países que proporcionen datos agregados en informes agregados para poder llevar a cabo la vigilancia epidemiológica. La decisión de utilizar informes basados en casos o informes agregados debe basarse en la capacidad de las autoridades sanitarias y el número de casos confirmados. Las autoridades nacionales pueden pasar de informes basados en casos a informes agregados a medida que aumenta el número de casos confirmados, y luego volver a los informes basados en casos a medida que disminuye el número de casos. Para llevar a cabo el informe agregado, los estados miembros deben enviar los siguientes recuentos nacionales semanales, una vez por semana: 1) Número semanal de nuevos casos confirmados; 2) Número semanal de casos nuevos de muertes confirmadas por COVID-19; 3) Número semanal de nuevos casos confirmados hospitalizados debido a la enfermedad COVID-19; 4) Número semanal de casos confirmados dados de alta; 5) Número semanal de personas evaluadas para COVID-19; 6) Número semanal de casos nuevos confirmados por grupo de edad en años (usando: 0- <5, 5-14, 15-24, 25-34, 35-44, 45-54, 55-64, 65-74, 75-84, 85 y más, falta de edad); 7) Proporción de hombres entre los nuevos casos confirmados: calculada como el número de casos nuevos confirmados en hombres, dividido por el total de casos nuevos confirmados para los que se conoce el sexo; 8) Número semanal de casos nuevos de muertes confirmadas por grupo de edad en años (usando: 0- <5, 5-14, 15-24, 25-34, 35-44, 45-54, 55-64, 65-74, 75-84, 85 y más, falta de edad); y 9) Proporción de hombres entre las nuevas muertes por casos confirmados: calculada como el número de muertes por casos nuevos confirmados en hombres, dividida por el total de muertes por casos nuevos confirmados para los que se conoce el sexo (21).

## Conclusiones

Al momento de concluir este artículo, el 25 de abril de

2020, día del Licenciado en Bioanálisis en Venezuela, en honor al natalicio del científico e investigador Rafael Rangel, precursor de la Microbiología y padre del Bioanálisis en nuestro país; han transcurrido 46 días desde que la OMS declaró a la COVID-19 como una pandemia. Para esta fecha, según la OMS, existen en el mundo 2.719.897 casos confirmados y 187.705 fallecidos, en 213 países y territorios; de los cuales 1.047.508 casos y 53.103 de los fallecidos por COVID-19, se registran en la Región de las Américas. Para este entonces, Venezuela, con 318 casos confirmados y 10 fallecidos; ocupa el puesto número 115 en el mundo y 18 en la Región de las Américas, en relación al número de casos confirmados y fallecimientos por COVID-19 (49).

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 bibliográficas

1. WHO. Nuevo coronavirus-China. WHO [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 [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 [Internet] 17 enero 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: [apps.who.int/iris/handle](https://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 [Internet] 30 de marzo de 2020 [Citado 03 de abril de 2020] Disponible en: [www.paho.org/documentos/directrices-laboratorio-para-deteccion-...](http://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 [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 [Internet] 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: [platform.gisaid.org/epi3/frontend/#414223](https://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 [Internet] march, 26

- [Citado 29 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › Health topics › Coronavirus
8. WHO. Intervención del Director General de la OMS en la conferencia de prensa sobre el 2019-nCoV del 11 de febrero de 2020. WHO [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
  9. WHO. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. WHO [Internet] 11 february 2020. Disponible en: [www.who.int](http://www.who.int) › ... › Technical guidance
  11. WHO. Coronavirus disease 2019 COVID-19. Situation report-49. WHO [Internet] 09 march 2020 [Citado 12 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › ... › Coronavirus disease 2019
  12. 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 [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
  13. WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Interim guidance. WHO [Internet] 13 march 2020 [Citado 13 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › Publications detail
  14. OMS. Manejo clínico de la infección respiratoria aguda grave (IRAG) en caso de sospecha de COVID-19. Orientaciones provisionales. WHO [Internet] 13 marzo 2020 [Citado 15 de marzo de 2020] Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331660>.
  15. WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation report-73. WHO [Internet] 02 april 2020 [Citado 03 de abril de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › ... › Coronavirus disease 2019.
  16. WHO. Modes of transmission of virus causing COVID-19: implications for IPC precaution recommendations. Scientific brief. WHO [Internet] 29 march de 2020 [Citado 31 de marzo de 2020] Disponible en: [www.who.int](http://www.who.int) › Publications detail
  17. WHO. Rational use of personal protective equipment for coronavirus disease (COVID-19) and considerations during severe shortages. Interim guidance. WHO [Internet] 06 april 2020 [Citado 10 de abril de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › ... › Coronavirus disease 2019
  18. WHO. Laboratory Testing strategy recommendations for COVID-19. WHO [Internet] 22 march 2020 [Citado 27 de marzo de 2020] Disponible en: [www.who.int](http://www.who.int) › ... › Technical guidance
  19. WHO. Novel Coronavirus (2019 nCoV): Strategic Preparedness and Response Plan. WHO [Internet] 3 february, 2020 [Citado 27 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › coronaviruse › srp-04022020
  20. WHO. Surveillance case definitions for human infection with 2019 nCoV. Interim guidance. WHO [Internet] 15 January 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › WHO documents detail
  21. WHO. Global surveillance for COVID-19 caused by human infection with COVID-19 virus. WHO [Internet] 20 march 2020 [Citado 22 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › default-source › coronaviruse › gl...
  22. WHO. Critical preparedness, readiness and response actions for COVID-19. WHO [Internet] 08 march 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › Publications detail
  23. WHO. Considerations in the investigations of cases and clusters of COVID-19. Interine guidance. WHO [Internet] 02 march de 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › Publications detail
  24. PAHO/WHO. Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV). PAHO/WHO [Internet] 28 enero 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: [www.paho.org](http://www.paho.org) › file › download
  25. WHO. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance. [Internet] 19 March 2020 [Citado 25 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › laboratory-guidance
  26. WHO. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19). Interim guidance. [Internet] 12 february 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › publications-detail
  27. WHO. Manual de bioseguridad básico en el laboratorio. 3era edición. Ginebra: WHO; 2005. Disponible en: <http://www.who.int> › topics › medical\_waste › manual\_biosegu...
  28. WHO. Infection prevention and control during health care when COVID-19 is suspected. Interim guidance. WHO [Internet] 19 march 2020 [Citado 25 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › diseases › infection...
  29. 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...
  30. 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 [Internet] 10 february 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int> › Publications detail
  31. WHO. Advice on the use of masks in the context of COVID-19. WHO [Internet] 06 april 2020 [Citado 12 de abril de 2020] Disponible en: [www.who.int](http://www.who.int) › Publications detail
  32. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak:

- rights, roles and responsibilities of health workers, including key considerations for occupational safety and health. WHO. [Internet] 19 March 2020 [Citado 25 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int/laboratory-guidance>
33. ISO. Medical laboratories-Requirements for quality and competence. ISO 15189:2012. International Organization Standardization; 2012.
  34. WHO. Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019–2020. WHO [Internet] 01 January 2019 [Citado 21 de abril de 2020] Disponible en: <http://www.who.int/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20>
  35. WHO. Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus. WHO [Internet] 2 March 2020 [Citado 19 de abril de 2020] Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail/guidance-for-laboratories-shipping-specimens-to-who-reference-laboratories-that-provide-confirmatory-testing-for-COVID-19-virus>
  36. WHO. In-house developed molecular assays COVID-19. 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>
  37. PAHO. Respuesta de la OPS/OMS. 31 de marzo del 2020. Informe N.º 1. PAHO/WHO [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>
  38. WHO. Molecular assays to diagnose COVID-19. 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>
  39. WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation report-44. WHO [Internet] 04 March 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int/.../Coronavirus-disease-2019>
  40. WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation report-79. WHO [Internet] 08 April 2020 [Citado 11 de abril de 2020] Disponible en: <http://www.who.int/.../Coronavirus-disease-2019>
  41. WHO. WHO lists two COVID-19 tests for emergency use. WHO [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>
  42. WHO. Global Epidemiological Surveillance Standards for Influenza. WHO [Internet] January 2014 [Citado 23 de abril de 2020] Disponible en: [https://www.who.int/influenza/resources/documents/influenza-surveillance\\_manual/en/](https://www.who.int/influenza/resources/documents/influenza-surveillance_manual/en/)
  43. WHO. WHO information for the molecular detection of influenza viruses. WHO [Internet] January 2020 [Citado 23 de abril de 2020] Disponible en: [https://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/molecular\\_diagnosis/en/](https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/molecular_diagnosis/en/)
  44. WHO. WHO's code of conduct for open and timely sharing of pathogen genetic sequence data 2 during outbreaks of infectious disease. WHO [Internet] 2016 [Citado 23 de marzo de 2020] Disponible en: [https://www.who.int/blueprint/what/normsstandards/GSDDraftCodeConduct\\_forpublicconsultation-v1.pdf?ua=1](https://www.who.int/blueprint/what/normsstandards/GSDDraftCodeConduct_forpublicconsultation-v1.pdf?ua=1)
  45. WHO. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. Scientific brief. WHO [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>
  46. WHO. Reglamento Sanitario Internacional (2005). Tercera edición. WHO. [Internet] 2016 [Citado 25 de abril de 2020] Disponible en: [https://www.who.int/ihr/Intro\\_legislative\\_implementation\\_es.pdf?ua=1](https://www.who.int/ihr/Intro_legislative_implementation_es.pdf?ua=1)
  47. WHO. Revised case report form for Confirmed Novel Coronavirus COVID-19. WHO [Internet] January 2020 [Citado 24 de abril de 2020] Disponible en: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/2019-covid-crf-v6.pdf?sfvrsn=c5ff90c6\\_2;](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/2019-covid-crf-v6.pdf?sfvrsn=c5ff90c6_2;)
  48. WHO. “Immunity passports” in the context of COVID-19. Scientific Brief. WHO [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>
  49. WHO. Coronavirus disease 2019 COVID-19. Situation report-96. WHO [Internet] 25 April 2020 [Citado 12 de marzo de 2020] Disponible en: <http://www.who.int/.../Coronavirus-disease-2019>