

## Diagnóstico molecular e inmunológico de la COVID-19 en el laboratorio

Cristina Gutiérrez\*

*Cátedra de Virología, Departamento de Microbiología, Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.*

Recibido 16 de noviembre de 2020

**Resumen:** La rápida expansión pandémica del coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2), agente responsable de la COVID-19, motivó a diversos grupos de investigación al desarrollo acelerado de técnicas de laboratorio para la determinación directa del virus, mediante la detección de su ARN genómico, de sus proteínas (antígenos virales) o de la respuesta inmunitaria del paciente frente a la infección (anticuerpos). Esta revisión muestra consideraciones de interés sobre la toma de muestras, los métodos moleculares e inmunológicos y sus algoritmos desarrollados para el diagnóstico de laboratorio de la COVID-19, indicados en los casos sospechosos. La RT-qPCR en tiempo real que determina las regiones E y RdRP sigue siendo la prueba molecular más recomendada. Los inmunoensayos que determinan antígenos virales (generados de 1-5 días tras el inicio de síntomas) son menos sensibles que las pruebas moleculares. En la detección de anticuerpos totales (IgM/IgG) contra el SARS-CoV-2 los ensayos tipo ELISA son más sensibles que las pruebas rápidas, recomendadas para estudios de serovigilancia y seroprevalencia. El conocimiento de la dinámica viral en el curso de la infección, a la luz de las nuevas tecnologías, contribuirá a una mayor comprensión para el desarrollo de pruebas que permitan el diagnóstico oportuno de la COVID-19.

**Palabras clave:** SARS-CoV-2; COVID-19; diagnóstico molecular; pruebas inmunológicas; algoritmo diagnóstico.

## Molecular and immunologic diagnosis of COVID-19 in the laboratory

**Abstract:** The rapid pandemic expansion of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), agent responsible for COVID-19, has motivated various research groups to accelerate the development of laboratory techniques for direct determination of the virus, through detection of its genomic RNA, its proteins (viral antigens) or the patient's immune response to infection (antibodies). This review shows relevant considerations on sampling, molecular and immunological methods and the algorithms developed for the COVID-19 laboratory diagnosis, indicated in suspected cases. Real-time RT-qPCR determining the E and RdRP regions remains the most recommended molecular test. Immunoassays that determine viral antigens (generated 1-5 days after the onset of symptoms) are less sensitive than molecular tests. ELISA tests are more sensitive than rapid tests for SARS-CoV-2 total antibodies (IgM/IgG) against SARS-CoV-2 detection and are recommended for serum surveillance and serum prevalence studies. Knowledge of the viral dynamics during the course of infection, in the light of new technologies, will contribute to a greater understanding for development of tests that allow the timely diagnosis of COVID-19.

**Keywords:** SARS-CoV-2; COVID-19; molecular diagnosis; immunological tests; diagnostic algorithm.

\* Correspondencia:  
E-mail: cristicharo@gmail.com

### Introducción

El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) es un virus perteneciente a la familia *Coronaviridae*, subfamilia *Orthocoronavirinae*, género *Betacoronavirus*, subgénero *Sarbecovirus* (Betacoronavirus,  $\beta$ 2b) y dentro de ellos al clado o linaje 2, que está mucho más próximo genéticamente a los coronavirus de los murciélagos que del SARS humano [1]. Esta variante

de coronavirus emergente fue reportada por primera vez en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China, a finales de 2019 como el virus responsable de una infección respiratoria aguda grave (IRAG) de elevada morbilidad y mortalidad, denominada luego por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19, por sus siglas en inglés) [2]. El SARS-CoV-2 es un virus envuelto con un genoma ARN de simple cadena, de polaridad positiva y un tamaño de 30 kb. Este

genoma codifica proteínas no estructurales, algunas de las cuales son esenciales en la formación del complejo transcriptasa-replicasa, y cuatro proteínas estructurales: espiga (S), envoltura (E), membrana (M), nucleocápside (N) y proteínas accesorias [3]. El virus tiene como receptor de entrada celular a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) [4].

El SARS-CoV-2 es el séptimo coronavirus identificado que infecta a humanos (HCoV), de los cuales HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1 y HCoV-OC43, son endémicos y causan infecciones respiratorias leves [5]. Sin embargo, dos variantes de coronavirus zoonóticos, que originan enfermedades graves en humanos, emergieron antes que el SARS-CoV-2: el agente responsable del síndrome agudo respiratorio severo (SARS-CoV), originado al sureste de China en 2002, y el virus responsable del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV), un brote de neumonía severa confinado a la península arábiga, con casos esporádicos en otras partes del mundo en el 2012 [6]. La presentación clínica de la infección por el SARS-CoV-2 puede variar desde una infección asintomática hasta una enfermedad grave [7]. El diagnóstico temprano de laboratorio de esta infección puede ayudar al manejo clínico y al control del brote, lo cual implica el uso de pruebas diagnósticas confiables, como la determinación directa del virus mediante la detección de su ARN genómico y de proteínas virales (antígenos) o la detección de la respuesta inmunitaria del paciente frente a la infección (anticuerpos u otros biomarcadores) [8].

Debido al patrón de expansión pandémica en el mundo exhibido por el SARS-CoV-2 al ser un virus nuevo, distintos grupos de investigación se han abocado en forma acelerada al desarrollo de pruebas moleculares y serológicas de sensibilidad y especificidad variable para su diagnóstico oportuno en el laboratorio, ensayos con prospectos de vacunas y protocolos terapéuticos [9]. A continuación, se tratarán aspectos relevantes sobre los avances en el desarrollo de las pruebas moleculares y serológicas, incluyendo las pruebas rápidas desarrolladas hasta ahora para el diagnóstico de laboratorio de la COVID-19.

### Diagnóstico de laboratorio de la COVID-19

Las pruebas de laboratorio de la COVID-19 van dirigidas a individuos que se ajusten a la definición de casos sospechosos, según lo establecido por la OMS [10]:

#### 1. Persona que cumple los criterios clínicos y epidemiológicos:

- **Criterios clínicos:** Aparición súbita de fiebre y tos o bien aparición súbita de tres o más de los siguientes signos o síntomas: fiebre, tos, debilidad general/fatiga, cefalea, mialgia, dolor de garganta, resfriado nasal, disnea, anorexia/náuseas/vómitos, diarrea, estado mental alterado.
- **Criterios epidemiológicos:** Haber residido o trabajado en zonas de alto riesgo de transmisión del virus (entornos residenciales cerrados o

humanitarios tales como campamentos o estructuras similares para personas desplazadas) en algún momento del periodo de 14 días anterior a la aparición de los síntomas; haber residido en una zona en la que haya transmisión comunitaria o haber viajado a ella en algún momento del periodo de 14 días anterior a la aparición de los síntomas; o bien, haber trabajado en un entorno de atención de salud, incluyendo establecimientos de salud y hogares, en algún momento del periodo de 14 días anterior a la aparición de los síntomas.

2. **Paciente con enfermedad respiratoria aguda grave (ERAG):** Infección respiratoria aguda con antecedentes de fiebre; presentar fiebre con medición igual o superior a 38 °C y tos con inicio en los últimos 10 días que precisa hospitalización.

### Toma de muestra para detección del SARS-CoV-2 y marcadores serológicos

#### *Bioseguridad en la toma y procesamiento de las muestras:*

Se deben cumplir los requerimientos establecidos por la OMS para uso de equipos de protección personal (EPP) contra el SARS-CoV-2 en establecimientos de salud. Las muestras deben ser tomadas por personal capacitado bajo normas de bioseguridad, incluyendo el uso de los EPP apropiados, higiene de manos adecuada, bata, respiradores [N95 (Estándar recomendado por el Centro para el Control de Enfermedades de Estados Unidos, CDC, con capacidad de filtrado del aire de 95%) o FFP2 (Estándar europeo recomendado por la EN 149:2001, *Filtering Face Pieces* 2, pieza o mascarilla facial filtrante tipo dos, con capacidad de filtrado de aire de 94%)], protección para los ojos [lentes o protector facial (*Face shield*)] y guantes [11]. La manipulación de muestras para la realización de pruebas moleculares estándar requiere un nivel de bioseguridad NBS-2 o instalaciones equivalentes, con el uso de un gabinete de bioseguridad (GBS) o un dispositivo de contención primario, que se recomienda para la manipulación de las mismas antes de su inactivación [12].

*Muestras respiratorias. Tipo, conservación y envío:* Se ha determinado que el virus puede ser detectado al menos 3 días antes del inicio de los síntomas (fase presintomática) hasta 12 o 14 días (al menos 6 o 7 días) en muestras del tracto respiratorio superior (hisopado nasofaríngeo u orofaríngeo), en las cuales la carga viral parece ser elevada durante la fase de los síntomas, y hasta 20 días o más en muestras del tracto respiratorio inferior (esputo, aspirado traqueal, lavado bronquioalveolar, entre otras [13] (Figura 1).

Los hisopos deben colocarse en un tubo con medio de transporte viral. Las muestras respiratorias deben mantenerse refrigeradas (4-8 °C) y enviarse al laboratorio, donde se procesarán dentro de las 24-72 horas de la toma, sino deben congelarse a -70 °C (o menos), hasta que se envíen al laboratorio de referencia. Si los hisopos se colocan

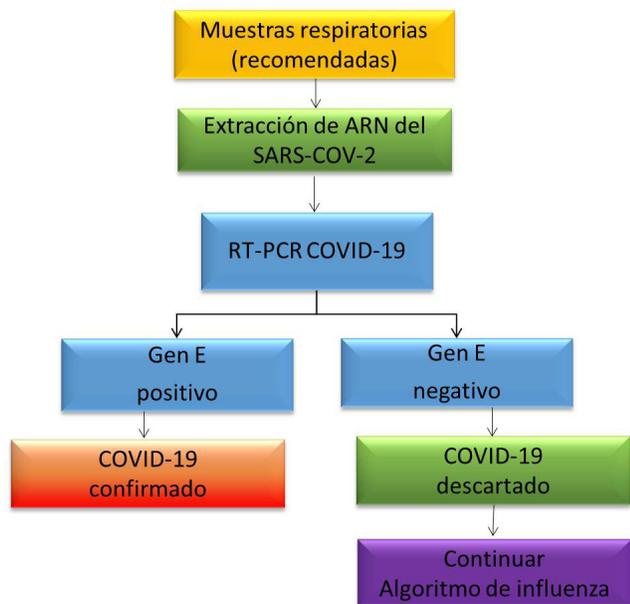


Figura 1. Algoritmo molecular para el diagnóstico de la COVID-19. Adaptado de la OMS, julio 2020 (Según protocolo Charité).

en solución salina estéril, en lugar de medio de transporte viral, el envío debe ser expedito [5].

**Otros tipos de muestra:** El SARS-CoV-2 se ha detectado en otros tipos de muestras como heces y sangre. La dinámica viral en estas muestras no se ha caracterizado completamente [14]. En una investigación se detectó la presencia del SARS-CoV-2 mediante determinación de carga viral en orina y se evidenció que la viabilidad del virus es mayor en muestras de heces que en muestras respiratorias y de sangre [15]. Si las pruebas moleculares dan resultado negativo, en un paciente sospechoso de la COVID-19, se sugiere la toma de muestras pareadas de suero: un suero en la fase aguda y otro en la fase de convalecencia tomada 2 a 4 semanas más tarde, para determinar si se ha producido la seroconversión o un aumento en los títulos de anticuerpos, para evaluar de manera retrospectiva si la persona ha tenido la COVID-19 [14]. En personas fallecidas se recomienda la toma de un hisopado post mortem, una biopsia por punción con aguja o muestras de tejido pulmonar, para realización de estudios anatomopatológicos y microbiológicos [19].

La saliva se ha propuesto como una muestra alternativa, debido a que se puede tomar fácilmente, minimizando la exposición potencial del trabajador de la salud [16]. Sin embargo, aún se necesitan más hallazgos que validen su uso. Por estas razones, la toma de esta muestra no se recomienda actualmente [8].

Se ha sugerido el uso de muestras combinadas como alternativa para reducir la cantidad de pruebas necesarias para el tamizaje [17]. Sin embargo, la sensibilidad de la prueba molecular puede disminuir causando falsos negativos. Esta estrategia puede ser útil cuando la prevalencia de la COVID-19 en la población es baja, pero al establecerse la transmisión comunitaria, podría generar una carga adicional, pues las muestras combinadas probablemente

serán positivas. Por esta razón, debe evaluarse su uso para diagnosticar casos individuales [18].

## Ensayos de laboratorio

Diversos institutos de investigación en el mundo han utilizado técnicas de detección basadas en la amplificación de ácidos nucleicos (AAN) y pruebas serológicas para la detección de inmunoglobulinas específicas contra el SARS-CoV-2 para diagnósticos precisos y confiables. Las muestras de pacientes infectados son la única fuente para establecer, controlar y validar protocolos compartidos a nivel internacional [18].

**Métodos moleculares:** La secuencia genómica completa del SARS-CoV-2 está disponible y se han desarrollado diversos protocolos para su detección, algunos ya validados de forma independiente [20]. La confirmación estándar de la infección aguda por el SARS-CoV-2 se basa en la detección de secuencias virales específicas mediante pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (AAN), como la reacción en cadena de la polimerasa por transcripción inversa en tiempo real (rRT-PCR). Para tal fin, la OMS ha dispuesto protocolos de diagnóstico molecular para los laboratorios nacionales de referencia, con capacidad para realizar pruebas moleculares a nivel global, incluyendo los Centros Nacionales de Influenza (CNI) [2].

El ARN se puede extraer de las muestras mencionadas anteriormente, utilizando cualquier protocolo estándar o estuche de extracción. La etapa de lisis de la muestra en la extracción de ARN inactiva cualquier virus. Por lo tanto, las muestras después de la lisis se consideran generalmente no infecciosas. La inactivación del virus SARS-CoV-2 a través de la lisis de la muestra se ha verificado para algunos kits comerciales [21].

El primer protocolo para la determinación molecular del SARS-CoV-2, puesto a disposición por la OMS, fue desarrollado por el Instituto de Virología Charité-Universitätsmedizin Berlín en Alemania [22] y se ha demostrado que este ensayo es altamente específico. El protocolo se basa en la detección por rRT-PCR de dos marcadores genómicos del virus: el gen E, utilizado como tamizaje, seguido de la confirmación de los resultados positivos al gen E a través de la detección del gen RdRP utilizando las sondas P1 y/o P2. El ensayo del gen E es específico para todos los virus relacionados con el SARS-CoV, pertenecientes al subgénero *Sarbecovirus*, entre ellos el SARS-CoV-2 (único *Sarbecovirus* circulante en humanos actualmente), y los virus de murciélagos relacionados, mientras que el ensayo RdRP con la sonda P2 detecta solo el genoma del SARS-CoV-2. Por lo tanto, un resultado positivo con el ensayo del gen E confirma un caso de COVID-19. La OMS ha distribuido reactivos (cebadores, sondas y controles positivos) y protocolos para estos ensayos a nivel mundial [2]. La detección de un solo marcador genético es suficiente para confirmar la presencia del virus en una muestra (Figura 2).

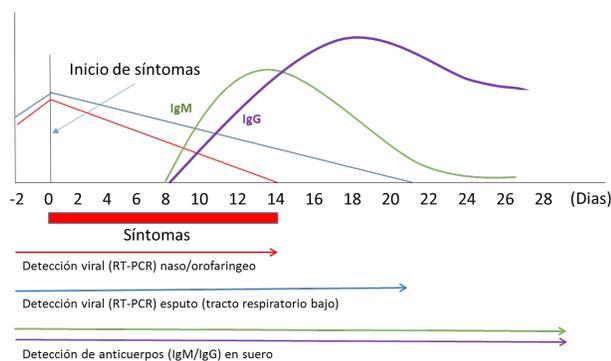


Figura 2. Curso de la infección por el SARS-CoV-2. Adaptado de la OMS, julio 2020.

Otros ensayos moleculares disponibles utilizan como dianas las regiones genómicas virales N y S, además de E y RdRP, con la finalidad de aumentar su sensibilidad. Algunos de estos ensayos han sido aprobados para su comercialización [18].

Diversos métodos de amplificación y/o detección, potencialmente útiles, han surgido en forma vertiginosa: el CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), dirigido a repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas; tecnologías de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos mediada por bucle de transcripción inversa o RT-LAMP (*Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification*); y ensayos de micromatrices moleculares (*Microarray*) [23]. Se ha estimulado la validación de los resultados analíticos y su utilidad, con el fin de aumentar el acceso a pruebas de detección del SARS-CoV-2 [18].

En la interpretación de los resultados, la determinación del material genómico del SARS-CoV-2 es específica, por ende, un resultado positivo confirma la detección del virus, mientras que un resultado negativo no siempre significa la ausencia de la infección viral, debido a que la sensibilidad de la rRT-PCR puede alterarse por diversos factores como la calidad de la muestra, su manipulación, transporte, almacenamiento o extracción de muestra deficiente, toma de muestra en una fase muy temprana o tardía de la infección y presencia de mutaciones en regiones genómicas analizadas, que influyen en el resultado [2].

El ARN viral puede perdurar en los pacientes por varios días, en ciertos pacientes durante varias semanas y en otros posiblemente por meses [24] y su presencia persistente no necesariamente significa que la infección se ha prolongado en el tiempo. Se ha reportado una correlación entre la infectividad reducida y el aumento del número de días transcurridos entre el inicio y la resolución de los síntomas, con disminución de la carga viral en secreciones respiratorias y un incremento de anticuerpos neutralizantes [25] (Figura 1).

En un individuo asintomático, el resultado negativo de una prueba molecular puede presentarse cuando la cantidad de virus no es suficiente para ser detectada, cuando el individuo se encuentra en el período posterior a la infección o este nunca estuvo infectado. Por esta razón, un resultado

negativo no descarta una posible infección. Resultados positivos obtenidos de pruebas moleculares durante búsquedas activas (trabajadores de salud, cuidadores en ancianatos, entre otros), constituyen casos asintomáticos [8].

Se ha sugerido que la agrupación y procesamiento de muestras tomadas de varias personas puede incrementar la capacidad de diagnóstico para detectar el SARS-CoV-2, cuando la tasa de realización de pruebas no llega a cubrir la demanda en algunos contextos. Se trata de una posibilidad a practicar en grupos de población con una prevalencia prevista de infección por el SARS-CoV-2 baja o muy baja. No se recomienda la agrupación de muestras de diferentes personas como método de rutina ni con fines de localización de contactos [18].

#### Pruebas inmunológicas:

*Determinación de antígenos virales:* Durante los primeros 5 días tras el inicio de los síntomas, los antígenos virales pueden detectarse mediante diferentes pruebas como enzoinmunoensayo (ELISA), inmunofluorescencia y pruebas rápidas de inmunoensayos de flujo lateral (*Lateral Flow Immunoassay*) (Figura 1), pero aún no se ha caracterizado totalmente la dinámica de producción y excreción de estas proteínas [18]. Según la OMS, la detección de antígenos presenta una especificidad aceptable (dependiendo del ensayo), por lo cual su detección puede ser usada como criterio de confirmación aunado a la definición de caso, la historia clínica y los antecedentes epidemiológicos; también puede ser útil en la toma de decisiones, si un caso amerita o no aislamiento. Un resultado negativo (en cualquier estadio de la infección) no debe ser usado como criterio para descartar un caso, y por ende se sugiere realizar ensayos moleculares complementarios. A diferencia de las pruebas de AAN, no se amplifica el material que se pretende detectar, lo que hace que las pruebas de antígenos sean menos sensibles. Además, pueden producirse resultados falsamente positivos si los anticuerpos utilizados en el ensayo también reconocen antígenos de otros coronavirus humanos. Es posible que estas pruebas presenten pérdida de sensibilidad, por lo que se sugiere que no se utilicen para casos graves o pacientes hospitalizados [8].

*Determinación de anticuerpos:* La detección de anticuerpos (IgM, IgG o IgA) generados contra el SARS-CoV-2 permite evaluar parte de la respuesta inmunitaria del individuo frente a la COVID-19. Los ensayos inmunológicos para determinación de anticuerpos se realizan a partir de muestras de suero sanguíneo. Los inmunoensayos tipo ELISA para detección de anticuerpos totales (IgM e IgG) se han diseñado utilizando la nucleoproteína (NP) del coronavirus del murciélago, que presenta una identidad genética del 92% y no muestra reacción cruzada con la del resto de los coronavirus [26]. Se ha sugerido que estos anticuerpos contra el virus son detectables alrededor del día 7 a partir del inicio de los síntomas en cerca del 50% de los casos, por lo tanto, un resultado de serología negativo durante los primeros 7 días de la enfermedad no

puede ser usado como criterio para descartar un caso [27]. La sensibilidad en la detección de anticuerpos totales se incrementa a partir de la segunda semana tras el inicio de los síntomas y se estima que para el día 14 más del 90% de los pacientes ya han desarrollado anticuerpos detectables, cuya presencia no garantiza que sean neutralizantes, ni que ofrezcan inmunidad protectora, pues se desconoce su tiempo de persistencia [18].

La determinación de anticuerpos no permite definir el momento en que ocurrió el contacto. De allí que aquellos pacientes asintomáticos que hayan tenido contacto previo con el SARS-CoV-2, y se infectaron posteriormente con otro microorganismo generador de síntomas respiratorios (Virus influenza, entre otros), resultará positivo para anticuerpos de la COVID-19, llevando a un diagnóstico errado. Por esta razón, no se recomienda la confirmación de casos mediante el uso exclusivo de esta prueba serológica [2].

La mayor proporción de anticuerpos son producidos contra la proteína más abundante del virus, la nucleocápside (N). Por ende, los ensayos que determinan anticuerpos contra la proteína N podrían ser más sensibles y específicos. Se ha sugerido que el uso de ensayos que detecten anticuerpos IgG o IgM dirigidos contra las proteínas N y S puede tener un mejor desempeño. Entre las técnicas disponibles para la determinación de estos anticuerpos se encuentran el LFI (*Lateral Flow Immunoassay*), el ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) y el CLIA (*Chemi Luminescent Immuno Assay*).

Actualmente, se llevan a cabo procesos de evaluación y validación para diversos estuches de diagnóstico serológico para la determinación de anticuerpos IgM/IgG contra el SARS-CoV-2, incluidas las pruebas rápidas (inmuncromatografía, detección con oro coloidal u otros formatos). Este tipo de pruebas puede tener un uso limitado, debido a que pueden exhibir reactividad cruzada con otros coronavirus, presentes normalmente en la comunidad o con condiciones preexistentes (embarazo, autoinmunidad, entre otras) y arrojar resultados falsos positivos [8].

Los ensayos serológicos (ELISA y pruebas rápidas) no son considerados pruebas diagnósticas y sus resultados deben evaluarse aunados a la información clínica, los resultados de otros ensayos y el contexto epidemiológico. Las pruebas rápidas tienen menor sensibilidad que las pruebas tipo ELISA y se ha sugerido su uso a nivel epidemiológico, en estudios de serovigilancia durante la investigación de un brote en curso, en la evaluación retrospectiva de la tasa de ataque y para estudios de seroprevalencia [18].

La determinación de anticuerpos IgM no muestra ninguna ventaja sobre los anticuerpos IgG, ya que los primeros no aparecen mucho antes que los segundos [28]. No se ha determinado el papel de la detección de la IgA en las pruebas diagnósticas de rutina. Para confirmar una infección reciente, los sueros de las fases aguda y convaleciente deben someterse a un ensayo semi-cuantitativo o cuantitativo validado. Los niveles máximos de anticuerpos suelen producirse en la tercera o cuarta semana después de la aparición de los síntomas [5].

La seroconversión o el aumento de los títulos de anticuerpos en muestras de suero pareadas ayudarán a confirmar si la infección es reciente o aguda. Si la muestra inicial (tomada en fase aguda) es positiva, este resultado podría deberse a una infección pasada que no guarde relación con la enfermedad en curso [18].

Se han reportado casos de reinfección por el SARS-CoV-2 [29]. La dinámica de los marcadores serológicos del SARS-CoV-2 y su interpretación, tras una infección posterior con una variante del virus u otro coronavirus, puede resultar difícil ya que se dispone de poca información al respecto [18].

## Consideraciones finales

El SARS-CoV-2 es un virus reciente de rápida propagación que ha sumergido al mundo en más de un millón de defunciones a nivel global hasta la fecha. Las pruebas para detectar respuestas de anticuerpos contra la COVID-19 en la población son de vital interés, para apoyar el desarrollo de vacunas y evaluar el alcance de la infección entre las personas que no se identifican a través de la búsqueda activa de casos, los esfuerzos de vigilancia y la tasa de contagio. Se requiere de futuras investigaciones a fin de dilucidar otras posibles rutas de transmisión viral y evaluar el impacto de la diversidad genética del SARS-CoV-2, a la luz de la evolución en la aparición de síntomas atípicos de la COVID-19 y la repercusión de todos estos aspectos en el desarrollo de pruebas inmunológicas más sensibles para la determinación de antígenos, que permitan obtener resultados en menos tiempo, así como nuevas drogas y vacunas contra la infección por el SARS-CoV-2 [30]. En conclusión, la rápida propagación de este virus en el planeta hace imperioso contar con métodos confiables para el diagnóstico oportuno de la COVID-19, reduciendo la posibilidad de clasificar a individuos como falsos negativos, quienes podrían propagar la enfermedad. El conocimiento de la dinámica viral en el curso de la infección y las posibles reinfecciones, a la luz del desarrollo de nuevas tecnologías, contribuirá a una mayor comprensión para el desarrollo de pruebas que permitan el diagnóstico oportuno de la COVID-19.

## Referencias

1. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). The ICTV report on virus classification and taxon nomenclature. Disponible en: [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/) Acceso 30 de octubre 2020.
2. Organización Panamericana de la Salud. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19. Actualización del 30 de marzo 2020. Washington, D.C.: OPS; 2020. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/directrices-laboratorio-para-deteccion-diagnostico-infeccion-con-virus-covid-19> Acceso 20

- de julio 2020.
3. Yoshimoto FK. The proteins of severe acute respiratory syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or nCoV19), the cause of COVID-19. *Protein J.* 2020; 39:198-216. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10930-020-09901-4>
  4. Yan R., Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science.* 2020; 367:1444-8. Doi: <https://doi.org/10.1126/science.abb2762>
  5. Hui D, Zumla A. Severe acute respiratory syndrome: historical, epidemiologic, and clinical features. *Infect Dis Clin North Am.* 2019; 33:869-89. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.07.001>
  6. Azhar EI, Hui DSC, Memish ZA, Drosten C, Zumla A. The Middle East Respiratory Syndrome (MERS). *Infect Dis Clin North Am.* 2019; 33:891-905. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.08.001>
  7. Kronbichlera A, Kresseb D, Yoonc S, Hwa Leed K, Effenbergere M, Shin JI. Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020; 98:180-6. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.1464>
  8. Organización Panamericana de la Salud. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19. Actualización del 8 de Julio 2020. Washington, D.C.: OPS; 2020. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52471> Acceso 15 de julio 2020.
  9. Organización Mundial de la Salud. Brote de enfermedad por coronavirus (COVID-19). Actualización del 25 de febrero 2020. Washington, D.C.: OPS; 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/emergencias/diseases/novel-coronavirus-2019>. Acceso 20 de agosto 2020.
  10. Organización Mundial de la Salud. Vigilancia de salud pública en relación con la COVID-19: orientaciones provisionales 7 de agosto de 2020. Washington, D.C.: OPS; 2020. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334000> Acceso 10 de agosto 2020.
  11. Organización Mundial de la Salud. Requerimientos para uso de equipos de protección personal (EPP) para el nuevo coronavirus (2019-nCoV). Washington, D.C.: OPS; 2020. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/requerimientos-para-uso-equipos-proteccion-personal-epp-para-nuevo-coronavirus-2019-ncov> Acceso 28 de octubre 2020.
  12. Organización Mundial de la Salud. Orientaciones de bioseguridad en el laboratorio relacionadas con la COVID-19. Orientaciones provisionales 13 de Mayo de 2020. Washington, D.C.: OPS; 2020. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332285> Acceso 10 de agosto 2020.
  13. Liu Y, Yan LM, Wan L, Xiang T-X, Le A, Liu J-M, *et al.* Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20:656-7. Doi: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30232-2](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30232-2)
  14. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020; 323:1843-4. Doi: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>
  15. Zheng S, Fan J, Yu F, Feng B, Lou B, Zou Q, *et al.* Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ.* 2020; 369:m1443. Doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1443>
  16. Azzi L, Carcano G, Gianfagna F, Grossi P, Gasperina DD, Genoni A, *et al.* Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. *J Infect.* 2020; 81:e45-e50. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.005>
  17. Yelin I, Aharony N, Shaer Tamar E, Argoetti A, Messer E, Berenbaum D, *et al.* Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools. *Clin Infect Dis.* 2020; 71:2073-8. Doi: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa531>
  18. Organización Mundial de la Salud. Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2: Orientaciones provisionales. 11 de septiembre de 2020. Washington, D.C.: OPS; 2020. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/335830> Acceso 28 de octubre 2020.
  19. Hanley B, Lucas SB, Youd E, Swift B, Osborn M. Autopsy in suspected COVID-19 cases. *J Clin Pathol.* 2020; 73:239-42. Doi: <https://dx.doi.org/10.1136/jc.inpath-2020-206522>
  20. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, *et al.* The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020; 5:536-44. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
  21. Centers for Disease Control and Prevention. CDC 2019-novel coronavirus (2019-nCoV) real-time RT-PCR diagnostic panel. Instructions for use. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/134922/download> Acceso 25 de octubre 2020.
  22. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020; 25:2000045. Doi: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
  23. Carter LJ, Garner L, Smoot J, Li Y, Zhou Q, Saveson C, *et al.* Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. *ACS Cent Sci.* 2020; 6:591-605. Doi: <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00501>
  24. Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon L, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20:411-2. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4)
  25. Wölfe R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müelle M, *et al.* Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020; 581:465-9. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
  26. Chan J, Yuan S, Kok K, To K, Chu H, Yang J, *et al.* A familial cluster of pneumonia associated with the

- 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*. 2020; 395:514-23. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9)
27. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020; 323:2249-51. Doi: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>
28. Deeks J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Philips S, Adriano A, *et al*. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020; 6:CD013652. Doi: <https://doi.org/10.1002/14651858>
29. To KK, Hung IF, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Tam AR, *et al*. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis*. 2020; 25:ciaa1275. Doi: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1275>
30. Gutiérrez C. SARS-CoV-2: aspectos biológicos, epidemiológicos y diagnósticos de un coronavirus emergente. *Acta Cient SVBE*. 2020; 23:3-13. Disponible en: <https://www.svbe.org/descargas/Acta%20Cient%C3%ADfica%202020-1.pdf> Acceso 30 de octubre 2020.

---

**Cristina del Rosario Gutiérrez García:**

Venezolana. Licenciada en Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela. MSc. en Biología mención Inmunología del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Doctor en Ciencias mención Microbiología (IVIC). Ex-jefe del Laboratorio de Programas Especiales (Hepatitis y Sida) del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR). Actualmente Profesora Asistente a tiempo completo en la Cátedra de Virología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, UCV. 35 artículos científicos y 4 libros publicados en eBooks Amazon. Tutora de 8 tesis de pregrado y 2 tesis de postgrado. Miembro del Programa de Estímulo al Investigador (PEI), Nivel B, desde 2011. A nivel Místico-Espiritual: Trainer y Coach Vibracional del Círculo de Realización Personal (CRP); Maestra y Consultora de Terapia de Respuesta Espiritual y del sistema Japonés Usui Reiki Ryoho; Instructora y terapeuta floral con las Soluciones Florales Venezolanas de Valeriano Sánchez.

