

PRUEBAS ANTIGÉNICAS EN LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE COVID-19

Carlos D'Suze García¹ , Josefa Villasmil Arias² , Luis Echezuria Marval.³

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

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

RESUMEN:

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

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

ANTIGENIC TESTS IN COVID-19 EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE

SUMMARY

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

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

Introducción

La infección ocasionada por el nuevo virus del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2), agente etiológico de la enfermedad asociada a

éste, la COVID-19, que se inició en diciembre de 2019 con los primeros casos de neumonía reportados en Wuhan, China y que fue declarada como pandemia por la OMS en marzo de 2020 (1), de acuerdo a los últimos reportes oficiales, hasta el día 25 de enero de 2021,

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

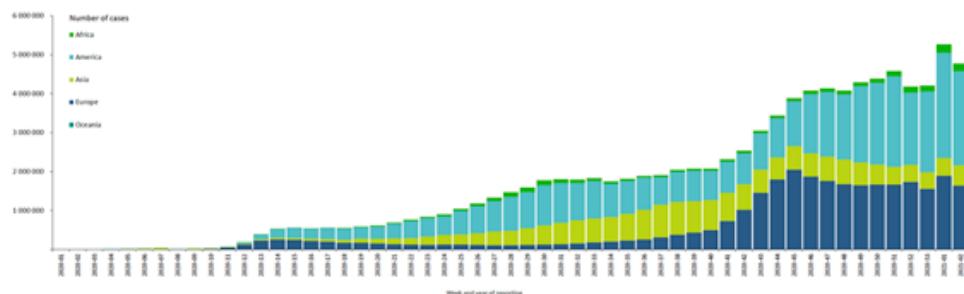


Figura 1. Distribución de casos confirmados por COVID-19 hasta enero 2021 (2).

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

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

Metodología

En este trabajo realizamos una revisión bibliográfica y documental de la literatura con el objetivo de identificar evidencia que podría usarse para evaluar la eficacia clínica de las pruebas diagnósticas que detectan la presencia de antígeno del SARS-CoV-2 para informar

el diagnóstico del COVID-19 y su utilización en la vigilancia epidemiológica y el control.

Aspectos epidemiológicos. Situación actual COVID-19

Agente etiológico

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

Fuente de infección

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

Periodo de Incubación

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

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

Periodo de transmisibilidad

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

Modo de transmisión

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

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

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

Medidas de Control

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

El conocimiento epidemiológico sobre las enfermedades permite clasificarlas y obtener una medida de su importancia y posibilidad de prevención. El conocimiento de la historia natural de la enfermedad

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La mejor estrategia de salud pública ante la COVID-19 debe ser fundamentada en la historia natural de la

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

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

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

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

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

Estructura viral y características antigenicas del SARS-CoV-2

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

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

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

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

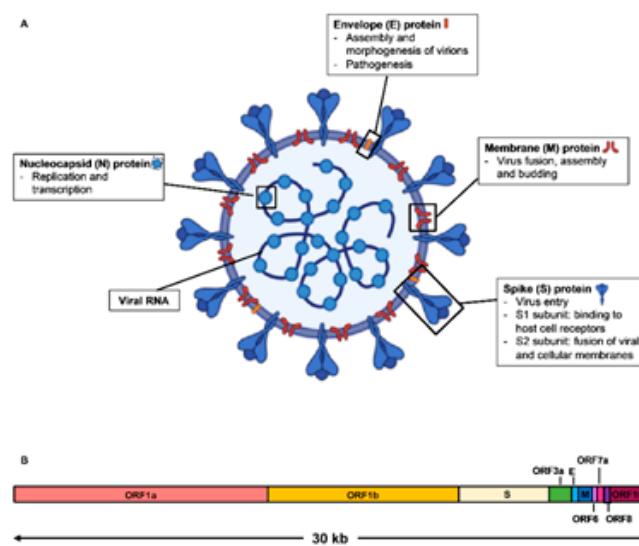


Figura 2. Diagrama esquemático de la estructura y organización genómica del virus SARS-CoV-2. (A) Las proteínas de la superficie viral, espiga (S), envoltura (E), y membrana (M) están insertadas en una bicapa lipídica. El ARN viral de cadena simple en sentido positivo está asociada con la proteína N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

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

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

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

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

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

Al entrar a las células, el ARN genómico (gARN) es usado como molde para generar un intermediario

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

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

b. Manifestaciones clínicas

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

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

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

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

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

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

Por otra parte, el sistema inmune adaptativo se activa cuando los péptidos virales procesados son presentados en el contexto de las moléculas del complejo de histocompatibilidad de clase I y clase II

a las T CD8+ y CD4+ respectivamente, para inducir la activación y expansión clonal de células efectoras específicas del virus y células T de memoria. En tanto a la producción de anticuerpos, las células B pueden activarse al reconocer el virus directamente y mediante mecanismo de cooperación celular con las células T CD4+. La seroconversión frente a la infección por el SARS-CoV-2, se inicia con la respuesta de anticuerpos de isotipo IgM, la cual se genera dentro de la primera semana después de los síntomas. Posteriormente, entre los 7-14 días después de la infección primaria, aparecen los anticuerpos de isotipo IgA e IgG los cuales permanecen por tiempo prolongado indicando exposición previa al virus (46).

Pruebas Diagnósticas de COVID-19

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

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

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

a.- Pruebas Diagnósticas- RT-qPCR

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

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

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

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

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

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

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

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

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

b. Pruebas Serológicas - Detección de Anticuerpos

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

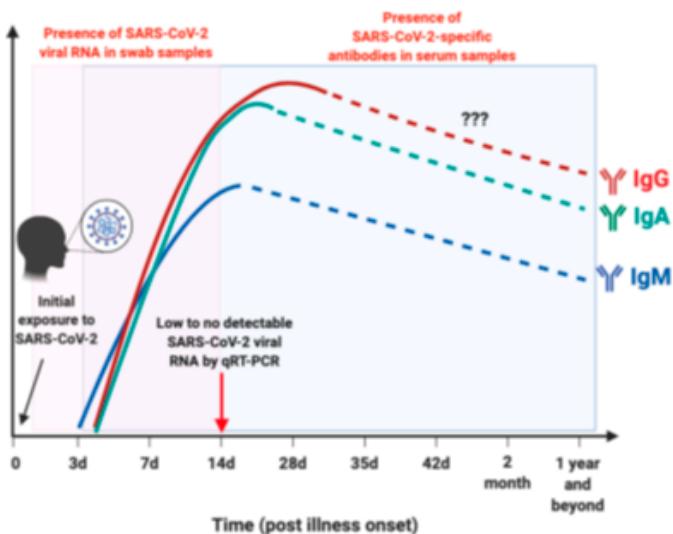


Figura 3. Ilustración esquemática del período de ventana para detección tanto de ARN viral o anticuerpos en individuos infectados por SARS-CoV-2. Presencia ARN viral se detecta en muestras de hisopados nasofaríngeos de pacientes infectados (letras rosadas) hasta el día 14 de la infección. Se muestran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

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

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

La mayoría de las pruebas detectan la unión de las

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

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

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

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

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

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

Dada la importancia de las pruebas serológicas para complementar el diagnóstico de COVID-19, es de especial interés tomar en cuenta la baja especificidad de algunos ensayos y la alta posibilidad de resultados falsos positivos. Esto puede tener consecuencias importantes para el diagnóstico y vigilancia epidemiológica tanto a nivel individual como poblacional. A nivel individual, un resultado falso positivo le estaría ofreciendo a las personas que nunca se han infectado, la posibilidad de considerarse inmunes a la infección por SARS-CoV-2 y de poder circular libremente descuidando las medidas de prevención y aislamiento. A nivel de población, los resultados falsos positivos pueden aumentar la prevalencia de la COVID-19 y proporcionan una imagen distorsionada del estado inmune de la población y una tasa de mortalidad más baja que la que suceda realmente, lo que puede afectar negativamente a los estudios de vigilancia epidemiológica (49). Así también es importante considerar los resultados falso negativos. Varios estudios han evaluado la sensibilidad clínica de las pruebas comerciales de flujo lateral para detectar simultáneamente anticuerpos IgM e IgG en muestras de pacientes que han sido diagnosticados con COVID-19 por pruebas de RT-qPCR, demostrando que esta puede variar considerablemente, dependiendo del momento en que se tomen las muestras. Pan y cols., reportaron que la sensibilidad del ensayo fue de 11.1% en los primeros días de la infección (1-7 días),

92,9% en pacientes de estadio intermedio (8-14 días) y 96,8% en los de estadio tardío (más de 15 días) (58). En otro estudio, Tang y cols, compararon el desempeño de dos pruebas comerciales serológicas, utilizando 103 muestras de pacientes con infección por SARS-CoV-2 confirmada por RT-qPCR y 153 controles sanos tomadas en diferentes días después de iniciados los síntomas (<3; 3-7; 8-13; y > 14 días). En ambas pruebas observaron una baja sensibilidad diagnóstica durante los primeros 14 días de los síntomas, generando un alto porcentaje de resultados falsos negativo (59). Así vemos, como la sensibilidad de las diferentes pruebas cambia en el transcurso de la infección. Por lo tanto, es necesario tener estrictos controles de calidad y validación de las diferentes pruebas serológicas para COVID-19 utilizando muestras de diferentes etapas de la enfermedad que aporten resultados importantes para el diagnóstico y seroprevalencia de la infección.

c. Pruebas diagnósticas para detección de Antígenos mediante inmunoensayos rápidos

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

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

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

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

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

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

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

Diversos estudios han evaluado y comparado el rendimiento de las pruebas para la detección rápida de SARS-CoV-2 en nuestras respiratorias con la PCR. Dichos datos muestran que, comparada con la de las

pruebas moleculares, la sensibilidad en muestras de las vías respiratorias altas (hisopos nasales o nasofaríngeos) es muy variable, que alcanzan en promedio hasta un 94%, y la especificidad es constantemente alta (>97%) dentro de los primeros días de iniciados los síntomas.

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

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

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

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

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

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

Vigilancia Epidemiológica y medidas de control

La vigilancia epidemiológica, es la observación continua y permanente de los factores que condicionan la frecuencia y la distribución, así como las tendencias de las enfermedades en las poblaciones humanas, mediante la recolección sistemática, la consolidación, tabulación, análisis de los datos de morbilidad y

mortalidad, composición y distribución de la población, sus actividades económicas y sociales, relación con el medio ambiente, así como de otros elementos relevantes (71). Esta información básica luego de analizada, permite caracterizar epidemiológicamente la COVID-19 en sus variables tiempo, lugar y persona, permite darnos los perfiles de la enfermedad de la población a nivel nacional, regional, distrital y local; así como los recursos disponibles para poder enfrentarlo. De igual manera, debe ponerse énfasis en la vigilancia de riesgos y procesos determinantes en la difusión de la enfermedad, en la presentación clínica y los recursos disponibles para atender y resolver en vez de restringirse solo a la evaluación de daños (72).

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

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

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

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

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

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

una vacuna segura y eficaz a la brevedad posible, para aplicar a la población creando la inmunidad de grupo o colectiva, también denominada de "rebaño", para prevenirla eficientemente.

Conclusiones y Recomendaciones

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

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

Referencias

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

- Wuhan-Hu-1, complete genome. [Internet]. [Revisado 23 de enero de 2020; citado 7 de octubre de 2020] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN908947.3>
7. Novel Coronavirus (2019-nCoV) situation reports [Internet]. [citado 23 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>
 8. Ministerio de Sanidad. [página web en Internet]. Enfermedad por coronavirus, COVID-19. [Internet]. 2020 [citado 28 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/ITCoronavirus.pdf>
 9. ECDC. [página web en Internet]. Epidemiología del covid-19. [citado 15 de noviembre de 2020]. Disponible en <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/epidemiology>
 10. ECDC. [página web en Internet]. Preguntas y respuestas sobre covid-19. [citado 25 de noviembre de 2020]. Disponible en <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/questions-answers>
 11. Organización Mundial para la Salud (OMS). [página web en Internet]. Preguntas y respuestas sobre la enfermedad por coronavirus (COVID-19). [citado 14 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public/q-a-coronaviruses>
 12. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579:265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
 13. Munster VJ, Koopmans M, van Doremalen N, van Riel D, de Wit E. A novel coronavirus emerging in China. Key questions for impact assessment. *N Engl J Med*. 2020;382(8):692-694. doi: 10.1056/NEJMmp2000929
 14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). [página web en Internet]. Enfermedad del coronavirus 2019, Covid-19, como se propaga el covid-19. [citado 28 de noviembre de 2020]. Disponible en <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covidspreads.html>
 15. Morawska L, Milton D. It Is Time to Address Airborne Transmission of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020;71(9):2311-2313. [citado el 20 de diciembre de 2020]. Disponible en: doi: 10.1093/cid/ciaa939
 16. Lewis D. Coronavirus in the air. *Nature*. 2020;583:510-513. [Consultado el 25 de diciembre de 2020] Disponible en: <https://media.nature.com/original-magazine-assets/d41586-020-02058-1/d41586-020-02058-1.pdf>
 17. D'Suze C, Echezuria L, Rísquez A, Gazzotti L, Fernández M. Epidemiología del Covid-19. Consenso Venezolano sobre manifestaciones sistémicas del Covid-19, Arch Venez Puer Ped. 2020;83(Sup3):2-14. [citado el 20 de noviembre de 2020]. Disponible en: http://www.svpediatria.org/repositorio/publicaciones/2020/SUP_AVPP%2083-10.pdf
 18. Control de la Enfermedades en la Población. En: Castillo-Salgado C, Mujica O, Loyola E, Canela J (editores). Principios de Epidemiología para el Control de Enfermedades. 2da Edición OPS. Washington DC; 2001, pp 5-35. Disponible en: https://www.paho.org/col/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=publicaciones-ops-oms-colombia&alias=858-mopece6&Itemid=688
 19. Vizcaíno G, Esparza J. Perspectivas de los dilemas éticos relacionados con la pandemia Covid-19. *Invest Clin*. 2020;61(4):393-405. doi: 10.22209/IC.v61n4a07
 20. Kulldorff M, Gupta S, Bhattacharya J. The Great Barrington declaration. [citado el 12 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://gbdeclaration.org/The-Great-Barrington-Declaration-and-Its-Critics-AIER>
 21. Alwan NA, Burgess RA, Beale R, Bhadella N, Bogaert D, Dowd J, et al. Scientific consensus on the COVID pandemic: we need to act now. *Lancet*. 2020;396:e71-e72. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32153-X
 22. Belfort J, Enria D, Giesecke J, Heymann DL, Ihekweazu C, Kobinger G, et al. WHO Strategic and Technical Advisory Group for Infectious Hazards. Living with the COVID-19 pandemic: act now with the tools we have. *Lancet*. 2020;396(10259):1314-1316. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32117-6
 23. Bartsch SM, O'Shea KJ, Ferguson MC, Bottazzi ME, Wedlock PT, Strych U, et al. Vaccine efficacy needed for a COVID-19 coronavirus vaccine to prevent or stop an epidemic as the sole intervention. *Am J Prev Med*. 2020;59(4):493-503. doi: 10.1016/j.amepre.2020.06.011
 24. Drosten C, Gunther S, Preiser W, Van Der Werf S, Brodt HR, Becker S, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*. 2003;348(20):1967-1976. doi: 10.1056/NEJMoa030747
 25. Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier R A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012;367(19):1814-1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721
 26. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
 27. Drexler JF, Corman VM, Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antivir Res*. 2014;101:45-56. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.10.013
 28. Anthony SJ, Johnson CK, Greig DJ, Kramer S, Che X, Wells H, et al. Global patterns in coronavirus diversity. *Virus Evol*. 2017;3(1):vex012. doi: 10.1093/ve/vex012
 29. Masters PS. Coronavirus genomic RNA packaging. *Virology*. 2019;537:198-207. doi: 10.1016/j.virol.2019.08.031
 30. Lee CY, Lin RTP, Renia L, Ng LFP. Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. *Front Immunol*.

- 2020;11:879. doi: 10.3389/fimmu.2020.00879
31. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol.* 2020;92(4):424-432. doi: 10.1002/jmv.25685
 32. Schoeman D, Fielding B C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol J* 2019;16(1):69 doi: 10.1186/s12985-019-1182-0
 33. Ji T, Liu Z, Wang G, Guo X, Akbar khan S, Lai Ch, et al. Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives. *Biosens Bioelectron.* 2020; 166:112455. doi: 10.1016/j.bios.2020.112455
 34. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* 2020;181(2):271-280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052
 35. Tortorici MA, Veesler D. Structural insights into coronavirus entry. *Adv Virus Res.* 2019;105:93-116. doi: 10.1016/bs.aivir.2019.08.002.
 36. Prompetchara E, Ketloy Ch, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2020;38:1-9. doi: 10.12932/AP-200220-0772
 37. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci.* 2020;12(1):8. doi: 10.1038/s41368-020-0074-x
 38. Hulswit RA, de Haan CA, Bosch BJ. Coronavirus Spike Protein and Tropism Changes. *Adv Virus Res.* 2016;96:29-57. doi: 10.1016/bs.aivir.2016.08.004
 39. Ji T, Liu Z, Wang G, Guo X, Akbar Khan S, Lai C, et al. Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives. *Biosens Bioelectron.* 2020; 166:112455. doi: 10.1016/j.bios.2020.112455.
 40. Chan JF, Kok K, Zhu Z, Chu H, To KK Yuan S, Yuen KY. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microb Infect.* 2020;9(1):221-236. doi: 10.1080/22221751.2020.1719902
 41. Merad M and Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2020;20:335-362. doi: 10.1038/s41577-020-0331-4
 42. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
 43. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020;8(5):475-481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
 44. Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD, et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2020;15:359-386. doi: 10.1007/s11481-020-09944-5.
 45. Rokni M, Ghasemi V, Tavakoli Z. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. *Rev Med Virol.* 2020;30(3):e2107. doi: 10.1002/rmv.2107
 46. Azkur A, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brüggen M, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy.* 2020;75(7):1564-1581. doi: 10.1111/all.14364
 47. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020;323(18):1843-1844. doi: 10.1001/jama.2020.3786
 48. Li Chun and Ren Linzhu. Recent progress on the diagnosis of 2019 Novel Coronavirus. *Transbound Emerg Dis.* 2020;67(4):1485-1491. doi: 10.1111/tbed.13620
 49. da Silva S, da Silva C, Guarines KM, Germano R, Mendes R, Pardee K, et al. Clinical and Laboratory Diagnosis of SARS-CoV-2, the Virus Causing COVID-19 ACS Infect Dis. 2020;6(9):2319-2336. doi: 10.1021/acsinfecdis.0c00274
 50. Corman V, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu D, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020; 25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045
 51. CDC. [página web en Internet]. 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time rRT-PCR Panel Primers and Probes; 2020. [citado el 27 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>
 52. Nalla A, Casto A, Huang W, Perchetti G A, Sampoleo R, Shrestha L, Wei Y, et al. Comparative Performance of SARS-CoV-2 DetectionAssays using Seven Different Primer/Probe Sets and One Assay Kit. *J Clin Microbiol.* 2020;58(6):e00557-20. doi: 10.1128/JCM.00557-20
 53. Gestoso L, Garcia Y, Gonzalez P, Mzarrero J. Recomendaciones y uso de los diferentes tipos de test para detección de infección por SARS-COV-2. *Enferm Clin.* 2020. doi: 10.1016/j.enfcli.2020.10.001O
 54. Lippi G, Mattuzzi C, Bovo Ch, Plebani M. Current laboratory diagnostics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) *Acta Biomed.* 2020;91(2):137-145. doi: 10.23750/abm.v91i2.9548
 55. Tang YW, Schmitz J, Persing D, Stratton C. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. *J Clin Microbiol.* 2020;58(6):e00512-20. doi: 10.1128/JCM.00512-20
 56. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang YF, Cruz C, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):778-785. doi: 10.1093/cid/ciaa310
 57. FDA. [página web en Internet]. Emergency Use Authorizations for Medical Devices. [citado el 14 de

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