



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA



Análisis de la eficacia de pruebas inmunológicas para la detección de antígenos del SARS-CoV-2

TESINA
PARA OBTENER EL GRADO DE
QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

PRESENTA
ADANELI SAEZ JIMÉNEZ

ASESOR
DOCTOR EN CIENCIAS. CARLOS CORTÉS PENAGOS

MORELIA, MICHOACÁN.

MAYO DE 2023

Agradecimientos

Hoy me tomo un momento para dejar redactadas las siguientes líneas y de la manera más sincera agradecerle a la vida por permitirme llegar con salud a esta etapa en la cual me siento plenamente feliz y orgullosa de haber superado cada obstáculo que encontré en el camino, los cuales fueron pieza clave para hacerme más fuerte.

A todas las instituciones donde me forme desde mi etapa inicial hasta la licenciatura, a lo largo de ello he adquirido experiencia y madurez que me han hecho la persona que soy hoy en día.

A todos los involucrados en este maravilloso proyecto, D.C. Carlos Cortés Penagos, M.S.P. Rodrigo Díaz Balcázar y D.C.E. Rosa Elena Torres Ruiz de los cuales aprendí el valor de obtener información de calidad y confiable, dejando en mí la inquietud por estar en constante aprendizaje y representan para mí un ejemplo de la calidad de profesionista a la que aspiro ser y para lo cual día a día me esfuerzo.

Dedicatorias

A mis padres Natalia Jiménez Servín y José Manuel Sáez Mier a quienes admiro enormemente por el gran esfuerzo que han realizado para sacar adelante y hacer personas de bien a sus cinco hijos, agradezco la oportunidad y el apoyo recibido para alentarme a perseguir mis sueños, aunque eso haya significado estar lejos, perderme de momentos suyos y ellos de momentos míos, no me alcanzara la vida entera para agradecer y tratar de recompensar todo lo recibido de su parte.

A mis hermanos Mauro, Sergio, Luis y sus respectivas esposas, quienes han sido parte fundamental para que esto hoy día sea realidad, mostrándome afecto y apoyo en todos los sentidos.

A mi hermana menor Yoselin a quien le deseo todo lo bonito de la vida y espero pueda lograr todas las metas que tenga en mente.

A mis sobrinos Nataly, Alexander, Paulina y Thiago, quienes me han enseñado una nueva forma de amor que no conocía, han llenado a la familia de momentos únicos y de mucha ternura.

A mi compañero y hoy futuro esposo Adolfo quien me ha acompañado desde hace más de 6 años con quien he compartido gran parte de este proceso, agradezco infinitamente su amor y su esfuerzo por ayudarme a llegar a este punto dándome siempre motivación, siendo cómplice de mis desvelos y múltiples sacrificios realizados.

En memoria de mi abuelo Salvador Jiménez Avilés quien hace poco más de dos años partió del plano terrenal y extraño cada día de mi vida, dedico este logro en su honor ya que fue pilar fundamental en mí y una de las personas más presentes desde mi infancia, guardo y atesoro cada recuerdo a su lado, fue una de las personas que jamás dejó de creer en mí y me hubiera gustado celebrar físicamente este paso juntos como siempre lo habíamos estado.

Por último y no menos importante, a Dios, al Dios en que yo creo y que me ha acompañado y permitido concluir esta etapa, gracias por todas las bendiciones recibidas.

I. Resumen

La familia coronaviridae se compone de patógenos capaces de infectar tanto a animales como al hombre a nivel respiratorio, gastrointestinal y hepático, son virus cuyo genoma es RNA con polaridad positiva.

Se desconoce hasta la fecha cuál fue el punto exacto dónde se originó el primer contagio de SARS-CoV-2, en un principio se habló de que surgió en un mercado ubicado en Wuhan, lo cual nunca se pudo corroborar ya que también había personas infectadas sin ningún acercamiento a este mercado.

Su vía de transmisión es por vía aérea, fómites o gotitas de flügge, una vez infectada la persona para combatir la infección se involucran el sistema inmune innato y adquirido, la secreción de anticuerpos es el frente que hace el sistema inmunológico ante dicha infección viral.

Un diagnóstico eficaz es de suma importancia, así como elegir el tipo de prueba ideal para el paciente hace efectivo el tratamiento en tiempo y forma adecuada para el estadio que presente, los tipos de pruebas existentes los podemos encontrar clasificados de acuerdo a su fundamento como moleculares e inmunológicas.

Uno de los mayores alcances que tienen las pruebas inmunológicas específicamente las que detectan antígenos es su rapidez y su sensibilidad para hacer detecciones de las proteínas virales incluso cuando no haya presencia de síntomas, es por ello que esta prueba se ha posicionado como la de elección en todos los aeropuertos, escuelas, centros de trabajo, etc. para hacer detecciones oportunas y evitar así la propagación. Por el contrario, su limitante sería que para hacer una correcta detección debe haber mayor concentración del virus, es decir encontrarse en una etapa donde el virus ya está más desarrollado, recomendándose que se realice la prueba por lo menos a los tres días de haber presentado el primer síntoma.

El procedimiento empleado por sí solo para llevar a cabo la prueba es bastante fácil y si se cumple con una buena toma de muestra el resultado es confiable en su totalidad, se lleva a cabo por medio de pruebas de flujo lateral, hoy en día existen incluso marcas que pueden realizarse completamente desde casa sin necesidad de acudir a un laboratorio y dada su eficacia de las distintas marcas avaladas se convierten en un medio práctico para obtener un resultado confiable a través de una prueba cualitativa.

Palabras clave: SARS-CoV-2, Diagnóstico, Antígenos, Sensibilidad, Flujo lateral, Prueba cualitativa.

II. Abstract

The coronaviridae family is composed of pathogens capable of infecting both animals and humans at respiratory, gastrointestinal and hepatic levels, they are viruses whose genome is RNA with positive polarity.

It is unknown to date what was the exact point where the first infection originated, at first there was talk that emerged in a market located in Wuhan, which could never be corroborated since there were also infected people without any approach to this market.

Its transmission route is by air, fomites or droplets of flügge, once infected the person to fight the infection involves the innate and acquired immune system, the secretion of antibodies is the front that makes the immune system to such viral infection.

An effective diagnosis is of utmost importance as well as choosing the ideal type of test for the patient makes the treatment effective in time and in an adequate way for the present stage, the existing types of tests can be classified according to their basis as molecular and immunological.

One of the greatest benefits of immunological tests, specifically those that detect antigens, is their speed and sensitivity to detect viral proteins even when there are no symptoms, which is why this test has positioned itself as the test of choice in all airports, schools, workplaces, etc. to make timely detections and thus prevent the spread of the disease. On the contrary, its limitation would be that to make a correct detection there must be a higher concentration of the virus, that is to say, to be in a stage where the virus is already more developed, recommending that the test be performed at least three days after the first symptom.

The procedure used by itself to carry out the test is quite easy and if a good sample is taken the result is reliable in its entirety, is carried out by means of lateral flow tests, today there are even brands that can be performed completely from home without going to a laboratory and given its

effectiveness of the various brands endorsed become a practical means to obtain a reliable result through an effective test.

Keywords: SARS-CoV-2, Diagnosis, Antigens, Sensitivity, Lateral flow, Qualitative test.

III. Índice

Agradecimientos.....	2
Dedicatorias	3
I. Resumen.....	5
II. Abstract.....	7
III. Índice.....	9
IV. Glosario	10
V. Abreviaciones	12
1. Introducción	13
2. Justificación	15
3. Objetivo.....	16
4. Estado del arte.....	17
4.1 Familia coronaviridae.....	17
4.2 Mecanismo de transmisión del SARS-CoV-2	20
4.3 La infección por SARS-CoV-2	20
4.4 Respuesta inmunológica	24
4.5 Pruebas para la detección de SARS-CoV-2.....	25
a) Pruebas moleculares.....	26
b) Pruebas inmunológicas.....	28
c) Métodos diagnósticos complementarios	32
4.6 Pruebas de antígeno aprobadas para su uso en México	33
4.7 Condiciones bajo las que se realiza la prueba	37
5. Conclusiones	42
6. Referencias bibliográficas	43
7. Anexos	48

IV. Glosario

Analito: es el componente de interés analítico de una muestra. Son especies químicas cuya presencia o concentración se desea conocer.

Asintomático: No tener signos ni síntomas de una enfermedad.

Bioseguridad: es un conjunto de normas, medidas y protocolos que son aplicados con el objetivo de contribuir a la prevención de riesgos o infecciones derivadas de la exposición a agentes potencialmente infecciosos o con cargas significativas de riesgo biológico, químico y/ físicos, como por ejemplo el manejo de residuos especiales, almacenamiento de reactivos y uso de barreras protectoras entre otros.

Catepsinas: Proteína con actividad proteolítica (enzima), se encuentra en tejidos animales, cataliza la hidrólisis de proteínas a polipéptidos; se encuentra en muchos tipos de células, incluyendo todas las células de animales; hay al menos una docena de miembros de esta familia de enzimas, que se diferencian entre sí por su estructura y por el tipo de proteína que atacan.

Diagnóstico: Proceso en el que se identifica una enfermedad, afección o lesión por sus signos y síntomas. Para ayudar a hacer un diagnóstico, se pueden utilizar los antecedentes de salud o realizar un examen físico y pruebas, como análisis de sangre, pruebas con imágenes y biopsias.

Disnea: es la dificultad respiratoria o falta de aire. Es una sensación subjetiva y por lo tanto de difícil definición. La dificultad respiratoria es una afección que involucra una sensación de dificultad o incomodidad al respirar o la sensación de no estar recibiendo suficiente aire.

Endosomas: son unos compartimentos membranosos que presentan una forma irregular, generalmente con aspecto de grandes "bolsas", que a veces también forman túbulos membranosos.

Genoma: El conjunto completo de DNA (material genético) en un organismo. En los seres humanos, casi cada célula contiene una copia completa del genoma. El genoma contiene toda la información necesaria para que una persona pueda crecer y desarrollarse.

Glicoproteína: Moléculas formadas por una proteína unida a uno o varios azúcares (glicanos).

Mialgia: Dolor en un músculo o grupo de músculos.

Monocatenario: Que está formado por una sola cadena.

Pandemia: se produce cuando una enfermedad contagiosa se propaga rápidamente en una población determinada, afectando simultáneamente a un gran número de personas durante un periodo de tiempo concreto.

Patogénesis: es el proceso por el cual los virus producen enfermedad en el hospedador. Los factores que determinan la transmisión, diseminación y multiplicación viral y el desarrollo de la enfermedad en el hospedador implican interacciones complejas y dinámicas entre el virus y el hospedador susceptible.

Polipnea: Respiración muy frecuente y superficial.

Virión: consiste en un genoma de ácido nucleico empaquetado en una cubierta proteica (cápside) o una membrana (envoltura). El virión también puede contener ciertas enzimas esenciales o accesorias u otras proteínas para facilitar la replicación inicial en la célula.

V. Abreviaciones

Ac: Anticuerpo

DNA: Ácido desoxirribonucleico

Ag: Antígeno

CoV: Coronavirus

CRT: complejo replicasa transcriptasa

EPP: Equipo de protección personal

FL: Flujo lateral

IgG: inmunoglobulina G

IgM: inmunoglobulina M

MERS: síndrome respiratorio de Oriente Medio

nm: Nanómetro

OMS: Organización mundial de la salud

ORF'S: Por sus siglas en ingles open reading frames, que hace referencia a marcos abiertos de lectura

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

Pp: Poli-proteína

RNA: Ácido ribonucleico

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa retrotranscriptasa

SARS: Síndrome respiratorio agudo severo

Sg: Subgenómico.

1. Introducción

El SARS-CoV-2 es un virus RNA monocatenario positivo perteneciente al género β de la familia de los coronavirus. El COVID-19 es una enfermedad infecciosa respiratoria y en su mayoría aguda (Ruiz A., *et al*, 2020). De acuerdo a diversos autores y según la investigación epidemiológica actual el periodo de incubación es de 1 a 14 días. Se han establecido modelos matemáticos que asumen que la transmisión comienza entre 1 y 2 días antes del inicio de los síntomas (Toro Montoya & Días Castrillón, 2020).

Los signos comunes que presenta un paciente sintomático incluyen dificultad respiratoria, fiebre, tos, fatiga, en algunos casos congestión y secreción nasal, dolor de garganta, mialgia y diarrea y en casos severos la infección puede provocar neumonía, síndrome respiratorio agudo severo, dejando secuelas como fallo renal y en casos fatales la muerte (WHO., 2020).

El diagnóstico a través de una prueba rápida para la detección de antígenos con muestras de pacientes que cumplan con criterios clínicos y/o epidemiológicos es solo para ser empleado como auxiliar en el diagnóstico de la infección, usándose en cualquier entorno de laboratorio y en algunos casos no laboratorios (Traina M., 2015).

Analizando la relación que existe entre sensibilidad y especificidad, las pruebas de antígenos proporcionan resultados óptimos y garantizan un diagnóstico preciso, siempre y cuando se realicen en el tiempo adecuado y analizando el nexa epidemiológico de cada paciente, recordar también que se deben interpretar como preliminares, ya que, en caso de un resultado negativo, no excluye en su totalidad de la infección y no puede usarse como el único método diagnóstico para detectar la infección (Llumiquinga T., 2021) (Traina M., 2015).

Si bien el protocolo aceptado para realizar el diagnóstico tiene como prueba confirmatoria de elección a la Reacción en cadena de la polimerasa inversa (RT-PCR), es sumamente necesario disponer de pruebas simples que de manera cualitativa por su sensibilidad y especificidad hagan

más fácil la idea de llevar a cabo análisis a gran escala obteniendo así el gran beneficio de un diagnóstico rápido dando oportuno tratamiento y manejo de los pacientes implementando medidas preventivas y de control (Llumiyinga T., 2021).

Hasta el momento y dependiendo de la marca las pruebas han demostrado una sensibilidad variable, pero basado en distintos estudios se recomienda utilizar aquellas con un porcentaje de sensibilidad de al menos del 70% en escenarios con alta prevalencia de enfermedad (Llumiyinga T., 2021) (MSP,2020).

2. Justificación

Esta investigación se tiene como propósito un análisis enfocado a una problemática que ha desatado una crisis mundial, pero sobre todo para el ámbito que concierne a los sistemas de salud globales. Es importante para el sector de la ciencia, así como para el resto, contar con una información veraz y concreta que nos ayude a comprender la complejidad y la forma de actuar de un virus que bien se podría decir ha cambiado la forma de vida a como la conocíamos a finales del 2019 y principios de 2020 que es cuando se da el surgimiento y esparcimiento de este nuevo virus.

Un diagnóstico de la enfermedad COVID-19 es de suma relevancia ya que se debe actuar con rapidez y de la manera más eficiente, si bien hoy en día se sigue un protocolo de diagnóstico enfocados y partiendo desde las cualidades de cada una de las distintas pruebas al principio era más complejo definirlo ya que no había una visión ni estudios claros de la sensibilidad y especificidad de las pruebas.

Cada una de los distintos métodos diagnósticos gozan de un porcentaje de especificidad y sensibilidad distintos siendo hasta el día de hoy la RT-PCR la que se diferencia por poseer un porcentaje considerable de sensibilidad y un porcentaje casi perfecto de especificidad, por otro lado, las pruebas de antígenos basadas en la búsqueda de proteínas virales tienen una sensibilidad en los pacientes sintomáticos que supera el 95%, siendo más elevada en la fase aguda la cual se presenta en los primeros cinco días y una especificidad que ronda el 95-99%.

Destacando lo que son las pruebas inmunológicas que detectan antígenos se debe decir que sobresalen por ser certeras y exactas aun cuando el individuo sea asintomático, lo cual aporta gran valor diagnóstico y estadístico para así estudiar posibles medidas y alternativas que sean de utilidad para visualizar la evolución de la nueva normalidad que se vive.

3. Objetivo

Determinar el valor diagnóstico de las pruebas inmunológicas para la detección de antígenos del SARS-CoV-2.

4. Estado del arte

4.1 Familia coronaviridae

Los coronavirus son patógenos importantes tanto en humanos como en vertebrados los cuales pueden infectar los sistemas respiratorio, gastrointestinal, hepático y nervioso central de humanos, ganado, aves, murciélagos, ratones y de muchos otros animales salvajes (Pastrian S., 2020). Estos son virus que poseen un genoma de una molécula de RNA de cadena sencilla con polaridad positiva (lo cual quiere decir que la secuencia de bases es la misma que la de los RNAs mensajeros). Son pertenecientes a la subfamilia Coronavirinae, de la familia Coronaviridae y del orden Nidoviral. El orden de los Nidovirales incluye también virus que usan un conjunto anidado de RNA mensajero (RNAm) para su replicación (López, *et al*, 2015) (Pastrian S., 2020).

Los Coronavirus se pueden dividir de forma genotípica y serológica en cuatro géneros: Alfacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus y Deltacoronavirus. Si nos basamos en las relaciones filogenéticas y estructuras genómicas, así como en la posición y variedad de las proteínas no estructurales, propiedades antigénicas y en el rango de hospederos, el SARS-CoV-2 pertenece al género de los betacoronavirus. De tal modo que siendo un nuevo betacoronavirus, este comparte 79% de identidad de secuencia del genoma con SARS-CoV y 50% con MERS- CoV (Véase Figura 1) (López, *et al*, 2015) (Pastrian S., 2020).



Figura 1. Ubicación taxonómica de las especies de *Betacoronavirus* que infectan al ser humano. SARS-CoV-2 pertenece a la especie *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*. Tomado de Ruiz A., et al. (2020).

El nuevo coronavirus, SARS-CoV-2, es causante de la enfermedad COVID-19, ha impactado enormemente la salud humana. El virus era prácticamente desconocido a finales del 2019 y principios de 2020. Desde entonces, se han realizado intensos esfuerzos de investigación han permitido secuenciar el genoma del coronavirus, la identificación de las estructuras de sus proteínas y la creación de una amplia gama de herramientas para buscar métodos diagnósticos, vacunas, terapias y tratamientos eficaces (Weisblum *et al.*, 2020).

A finales de diciembre de 2019, en centros de salud de Wuhan, provincia de Hubei, China, se informaron casos de grupos de pacientes con neumonía por causas desconocidas, estos, de la misma manera que los pacientes infectados con SARS y MERS, presentaban síntomas de neumonía viral, fiebre, tos, malestar torácico, mientras que en casos más graves se presentaba disnea e infiltración pulmonar bilateral (Hu *et al.*, 2021).

Una mayoría de los pacientes hospitalizados que se documentaron en ese momento estaban de una u otra manera vinculados epidemiológicamente al mercado mayorista de mariscos de

Huanan, ubicado en Wuhan, más tarde también se identificaron pacientes sin antecedentes de exposición a dicho mercado en el cual aparte de vender mariscos también comercializan animales vivos (Hu *et al.*, 2021).

Hay evidencia por la cual se cree que la aparición del primer caso conocido se remonta al 8 de diciembre de 2019. El 30 de diciembre del mismo año la comisión de salud de Wuhan notificó un brote de neumonía y a su vez informó a la organización mundial de la salud (OMS), seguidamente en enero 30 del año 2020 la OMS declaró el nuevo brote de coronavirus como una emergencia de salud pública, posterior a esto el comité internacional de taxonomía de los virus nombró el nuevo coronavirus ‘SARS-CoV-2’, mientras tanto la OMS el 11 de febrero del 2020 nombro a la enfermedad que este virus provoca como ‘COVID-19’ declarándose así el brote mundial como una pandemia debido a que el número de casos confirmados aumentaba considerablemente a principios de febrero con más de 3.000 casos confirmados por día, por esta razón para poder controlar el COVID-19 se tuvieron que implementar medidas de salud pública estrictas, la ciudad de Wuhan fue cerrada el 23 de enero de 2020, los viajes y transportes que conectaban la ciudad fueron bloqueados, además todas las actividades al aire libre fueron restringidas y las instalaciones públicas también fueron cerradas en la mayoría de las ciudades (Hu *et al.*, 2021).

Basados en certeza genética que sugiere que el SARS-CoV-2 es un virus natural que probablemente se originó en animales, sin embargo, no se sabe con certeza cuando y donde el virus infecto por primera vez un humano, ya que algunos de los primeros casos reportados en Wuhan no tenían ningún vínculo epidemiológico con el mercado antes mencionado, por lo que se ha sugerido que dicho mercado puede no ser la principal fuente inicial de infección humana con SARS-CoV-2 (Hu *et al.*, 2021).

4.2 Mecanismo de transmisión del SARS-CoV-2

La vía de transmisión más probable del COVID-19 es por contacto y gotitas respiratorias (aerosoles) en distancias cortas (1.5m) y, también por fómites contaminados. Aunque no se puede descartar que exista cierto grado de transmisión por vía aérea. Se cree que la mayoría de los contagios se producen por pacientes sintomáticos, pero también pueden existir los contagios a partir de pacientes asintomáticos e incluso a partir de personas en periodo de incubación de la enfermedad (Trilla A, 2020).

Algunas de las circunstancias bajo las que se pueden dar los contagios incluyen:

- a) Espacios cerrados: en los cuales una persona infectada expuso a personas susceptibles al mismo tiempo, o por otra parte que las personas susceptibles estuvieran expuestas poco después que la persona infectada había abandonado el espacio.
- b) Exposición prolongada a partículas respiratorias: Generadas con frecuencia con el esfuerzo respiratorio (gritar, cantar, hacer ejercicio), lo que hace que aumente considerablemente la concentración de gotitas respiratorias suspendidas en el espacio de aire y, por último, la ventilación y el manejo inadecuado de aire: Con lo cual se favorece la acumulación de pequeñas gotas y partículas respiratorias en suspensión (CDC., 2020).

4.3 La infección por SARS-CoV-2

Los coronavirus de los humanos son viriones con envoltura esféricos de 120 a 160 nm de diámetro. Este nombre se debe a sus proyecciones muy características de "Corona" en su superficie de aproximadamente 20 nm de largo. El RNA genómico se utiliza como una plantilla, para traducir directamente la Poli-Proteína (pp) 1a/1b, que codifica las proteínas no estructurales para así formar un Complejo de Replicasa-Transcriptasa (CRT) en vesículas de doble membrana. Posteriormente, un conjunto de RNA subgenómico (sgRNA) son sintetizados por el CRT en una forma de transcripción discontinua. Estos RNAm subgenómicos poseen una secuencia común 5' iniciador y

3' terminal. La terminación de la transcripción y la posterior adquisición de una RNA iniciador se produce en las secuencias reguladoras de la transcripción (SRT) ubicados entre los marcos abiertos de lectura (del inglés, Open Reading Frames) (ORF's). Estos RNA subgenómicos de cadena negativa sirven como plantillas para la producción de RNAm subgenómicos. Cuatro proteínas estructurales son las esenciales para el ensamblaje de viriones y la infección de CoV: (Véase Figura 2) (Wang *et al.*, 2021).

- a) Los homotrimeros de las proteínas S constituyen la espiga en la superficie de las partículas virales y es la clave para la unión viral al receptor del huésped.
- b) La proteína M tiene tres dominios transmembrana y da forma a los viriones, promueve la curvatura de la membrana y se une a la nucleocápside.
- c) La proteína E juega un papel en el ensamblaje y liberación del virus, y es necesaria para la patogénesis.
- d) La proteína N contiene dos dominios, ambos pueden unirse al genoma de ARN del virus a través de diferentes mecanismos (Wang *et al.*, 2021).

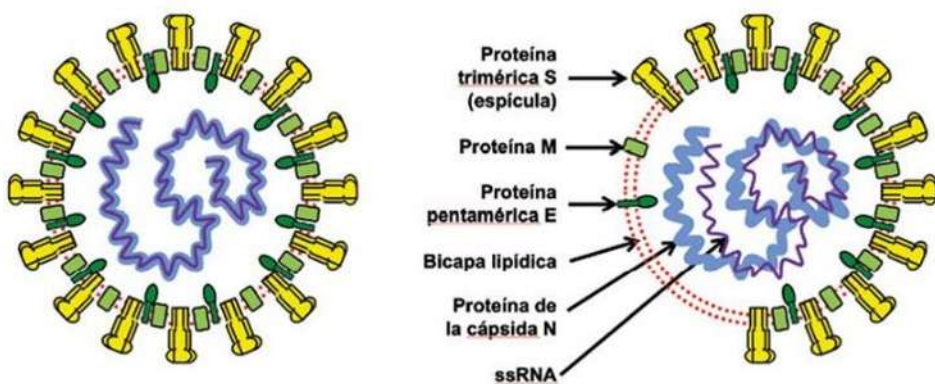


Fig 2 Representación esquemática de un coronavirus. ssRNA, “single strand RNA” (RNA monocatenario. Tomado Ruiz A *et al.*, (2020).

Se informa que la proteína N puede unirse a la proteína nsp3 para ayudar a unir el genoma al complejo replicasa-transcriptasa (CRT) y empaquetar el genoma encapsulado en viriones. La

proteína N también es un antagonista del interferón y el represor viral codificado (VSR) de RNA de interferencia (RNAi), que benefician la replicación viral. El coronavirus SARS-CoV-2 entra en las células a través de la unión de la proteína S que media la entrada en células del huésped, con el receptor ACE-2 (enzima convertidora de angiotensina 2) de las células huésped. ACE-2 forma parte de una ruta bioquímica que interviene en la regulación de procesos como la inflamación o la presión sanguínea y su función habitual es modular la actividad de la angiotensina 2 para contrarrestar sus efectos dañinos (Wang *et al.*, 2021).

La proteína S está formada por tres unidades idénticas organizadas en forma de círculo que encajan con el receptor ACE-2 como una llave y median la fusión de la cubierta membranosa del virus con la membrana de la célula que está siendo infectada. La unión entre la proteína S y el receptor ACE-2 marca el punto de destino del virus en el organismo, pero es la activación de la proteína S lo que abre las puertas de la célula al virus. La activación de la proteína S está mediada por la proteasa celular TMPRSS2, que suele localizarse cerca de ACE-2. TMPRSS2. De este modo, los virus entran en la célula rodeados de membrana celular formando endosomas, se liberan catpsinas, otras proteínas que modifican de nuevo la proteína S, y proteasas que favorecen la liberación del RNA viral al citoplasma. Para este proceso son importantes las condiciones de pH en el interior de las vesículas (Wang *et al.*, 2021).

El RNA viral se traduce directamente a poliproteínas, que son procesadas en proteínas funcionales responsables de la replicación y transcripción del virus. Así, por una parte, se producen RNAs que son traducidos en proteínas estructurales del virus y por otra se generan RNAs genómicos que serán empaquetados en los nuevos viriones que se van formando. Por último, los viriones se liberan al exterior de la célula y pueden infectar otras células (Fernández *et al.*, 2020).

En resumen, el virus infecta inicialmente las células epiteliales de la nasofaringe cuando el dominio de unión al receptor de S interactúa con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina-2 (ACE-2). El SARS-CoV-2 puede extenderse posteriormente a otras células epiteliales que expresan ACE-2 en el pulmón y el intestino. Estos tejidos son ricos en células linfoides que se organizan en tejidos linfoides asociados a la nasofaringe y al intestino NALT y GALT, respectivamente (Véase Figura 3) (Wang *et al.*, 2021).

El periodo de incubación en la mayoría de los casos es de tres a siete días, pudiendo llegar hasta los 14 días (Fernández *et al.*, 2020).

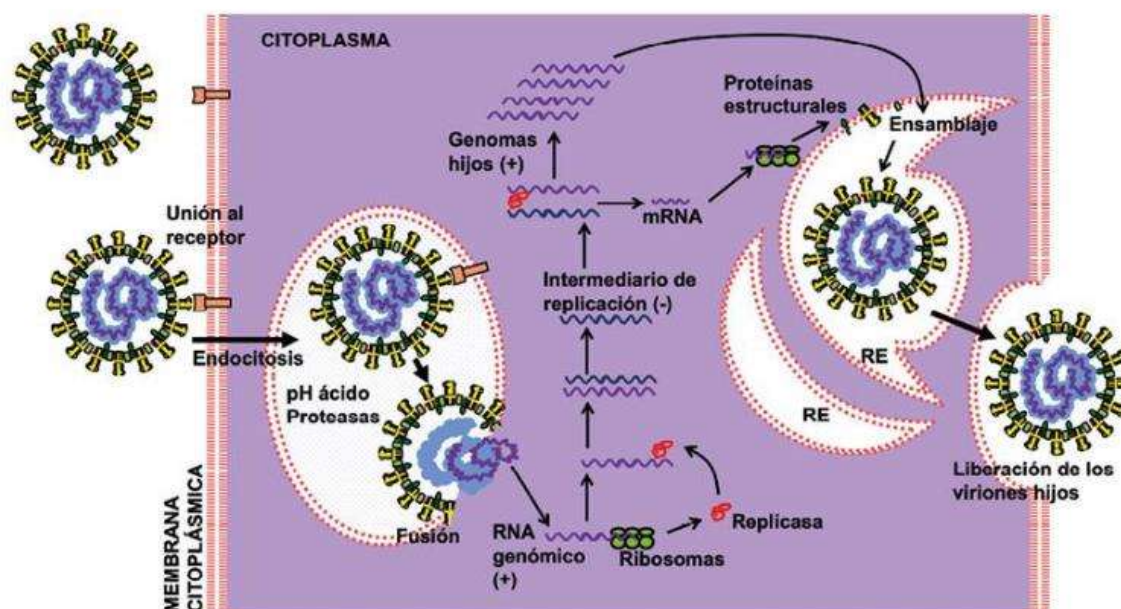


Fig 3. Replicación de SARS-CoV-2. El virión se une por su glicoproteína S (subunidad S1) al receptor celular (enzima convertidora de angiotensina 2), lo que induce la endocitosis. El pH ácido y las proteasas endosomiales escinden las subunidades S1 y S2 y modifican S2 para que actúe promoviendo la fusión de la envoltura viral y la membrana de la vesícula endocítica. La traducción parcial del RNA genómico conduce a la síntesis de la RNA polimerasa dependiente de RNA, que fabrica el intermediario de replicación (RNA de polaridad -), el cual actúa como molde para la síntesis de los RNAs genómicos de los viriones hijos. También se producen mRNAs para la síntesis de las proteínas estructurales. El ensamblaje de los distintos componentes sintetizados produce los viriones hijos, que emergen del retículo endoplásmico (RE) en el interior de vesículas, las cuales se fusionan con la membrana citoplásmica para liberar la progenie viral. Tomado Ruiz A *et al.*, (2020).

4.4 Respuesta inmunológica

El termino inmunidad es derivado del latín *immunitas*, término otorgado a la protección que se les daba a los senadores romanos en defensa a cualquier acción judicial durante el tiempo que ejercían su cargo. Si nos remontamos a su terminología histórica la inmunidad hace referencia a la protección contra enfermedades, específicamente de origen infeccioso (Pacora., 2020).

La respuesta inmunitaria es uno de los mecanismos de defensa de nuestro cuerpo y el de otros organismos vivos. Lo que sucede es que nuestro sistema inmunitario reconoce y ataca regiones específicas como lo son los antígenos del agente patógeno, en este caso el SARS-CoV-2, evitando que provoquen daños. El sistema inmunológico ha ido evolucionando desde que inicio la propagación del virus hasta que se convirtió en pandemia y al sentirnos expuestos al contagio para protegernos de este patógeno, de igual manera lo ha hecho el coronavirus que también ha estado en constante evolución y adaptación, así como generando nuevas variantes. Es fundamental para el sistema inmune antes de dar inicio a movilizaciones para producir una respuesta ante el virus, distinguir entre lo propio del organismo y lo ajeno a él para así evitar auto atacarse (Pacora., 2020).

En general la respuesta inmune la podemos dividir o conceptualizar en inmunidad innata y adaptativa. La defensa contra el coronavirus tiene lugar a través de las primeras reacciones que son correspondientes a la inmunidad innata para después dar paso a la inmunidad adaptativa.

- a) Respuesta inmune innata: La inmunidad innata o natural es la primera línea de defensa contra los patógenos siendo esta respuesta crucial para la prevención o el inicio de la infección permitiendo con ello un equilibrio, este tipo de inmunidad es de suma importancia para la posterior inmunidad adaptativa.
- b) Respuesta inmune adaptativa: Es producida cuando el sistema inmune responde ante la presencia del coronavirus. Se hace notar la participación de células especializadas y

anticuerpos que atacan al virus, esta inmunidad también es la encargada de prevenir futuras infecciones ya que cuenta con una “memoria” que recuerda como es el virus, produciendo así una nueva respuesta inmunitaria. Esta mediada por linfocitos que expresan receptores diversos capaces de reconocer los antígenos, se encuentran principalmente los linfocitos B y T, emiten diferentes respuestas inmunitarias cada uno (Pacora., 2020).

En la respuesta inmune antiviral contra coronavirus, se involucran componentes moleculares y celulares del sistema innato y adquirido, anteriormente ya se describió como es que cada uno actúa y en qué momento lo hacen. Participan por ejemplo mediadores moleculares como lo son interferones tipo I y los anticuerpos IgA, IgM e IgG, de igual manera neutrófilos, macrófagos y linfocitos con actividad citotóxica sobre las células infectadas, como los Natural Killer y los T CD8+. Sumado a esto, las células dendríticas y los linfocitos auxiliares T CD4+ son de suma importancia en la activación de la respuesta inmune efectiva. Específicamente, la secreción de anticuerpos es un indicador sumamente relevante y simple de detectar que refleja la respuesta inmune frente a los antígenos virales (Aguilar *et al.*, 2020).

La comprensión de los mecanismos de inmunidad en las infecciones virales ha sido, por supuesto, muy importante. Recientemente se ha reconocido el papel que el propio sistema inmunológico desempeña en la patogénesis de las infecciones virales. La inmunología ha contribuido de propio derecho al desarrollo de muchas de las técnicas clásicas y claro nuevas en virología (Cann A., 2015).

4.5 Pruebas para la detección de SARS-CoV-2

El adecuado diagnóstico por el laboratorio es crucial para la identificación de pacientes con COVID-19, y para ayudar a conocer la severidad de la enfermedad. Es importante por ello, saber

qué pruebas son confiables y qué laboratorios están en capacidad de ofrecer un diagnóstico certero (Velazco *et al*, 2021).

Al momento se cuenta con dos tipos de pruebas para el diagnóstico de SARS-CoV-2 que se clasifican según sus fundamentos como pruebas moleculares y pruebas inmunológicas.

Las pruebas moleculares por su parte pueden detectar la presencia del virus desde, una semana antes y hasta una semana después de la aparición de los síntomas. Sin embargo, se debe pensar qué ocurre con las personas asintomáticas es por ello que existen las pruebas que detectan la respuesta inmunológica del individuo (Véase Anexo A) (Valencia *et al.*, 2020).

- a) Pruebas moleculares: Los métodos moleculares de diagnóstico que permiten la detección de ácidos nucleicos están basados en la búsqueda y el reconocimiento del genoma viral en la muestra clínica. Las técnicas más utilizadas es la técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*, Reacción en cadena de la polimerasa) , la cual es una técnica muy establecida, utilizada de manera rutinaria, basada en la amplificación de forma exponencial fragmentos de DNA (amplicones) flanqueados por secuencias de bases conocidas, con las que han de hibridar oligonucleótidos sintéticos que actuarán como iniciadores (“primers”) de la síntesis de las copias del amplicón, mediante ciclos consecutivos de incrementos y bajadas de temperatura, lo que permite, a partir de pocas secuencias iniciales de DNA (pocas copias de material genérico) ampliar a grandes cantidades que pueden ser detectadas mediante fluorescencia. Tras ciclos sucesivos de amplificación, se dispone de una cantidad suficiente como para detectarlo con gran sensibilidad (Ruiz *et al.*, 2020) (Hart S., 2020).

En las técnicas de PCR en tiempo real, la amplificación y la aparición de una señal de detección (generada por una sonda que reconoce una secuencia interna del amplicón, lo que refuerza la especificidad de la técnica) son simultáneas (Ruiz *et al.*, 2020).

Esta técnica amplifica el DNA, pero no RNA, por lo que en el caso del RNA vírico es necesario una operación previa que consiste en extraer el RNA presente en la muestra y, mediante una retrotranscriptasa (RT, enzima que, tomando RNA como molde, sintetiza DNA) o (RT *reverse transcription*) convirtiéndolo en DNA, y a partir de eso entonces iniciar la PCR. Las ventajas de estas técnicas son múltiples permitiendo detectar el RNA del virus días antes que aparezcan los síntomas, la carga viral va aumentando en la fase aguda y luego aproximadamente dentro de 14 a 21 días debe negativizarse por lo que permite valorar incluso su uso para ver la evolución del paciente y evitar así la transmisión, este procedimiento se conoce como RT-PCR (Hart S., 2020).

Los oligonucleótidos utilizados como “primers” y como sondas se diseñan de acuerdo con los datos de secuenciación del genoma del virus. Numerosas casas comerciales han desarrollado RT-PCR para diagnóstico de COVID-19 y han publicado evaluaciones de sensibilidad y especificidad. Un resultado positivo para la presencia de un gen del SARS-CoV-2 se interpreta como probable infección; es recomendable confirmarlo mediante la detección de otro gen; por ello, son preferibles los diseños que permitan detectar simultáneamente dos genes (Hart S., 2020).

Las técnicas de PCR destacan por su extremada sensibilidad, una RT-PCR bien diseñada y adecuadamente ejecutada detecta RNA del SARS-CoV-2 desde los primeros días de la infección (Hart S., 2020).

La toma de la muestra se realiza con un exudado nasofaríngeo, en donde se introduce un hisopo largo a través de las dos narinas (orificios nasales) hasta la garganta y con un movimiento rotatorio se toma una muestra de secreción nasal (Costa M, 2021).

La prueba PCR es altamente eficaz pues tiene una alta especificidad diferenciando entre patógenos similares, alta sensibilidad detectando el patógeno aun cuando sólo esté presente en pequeñas cantidades en la muestra y en las primeras fases de contagio (Costa M, 2021). Los inconvenientes de estas técnicas es que la ejecución de una RT-PCR puede consumir más de 4 horas o más, requiere instrumentación automatizada, laboriosidad, así como de un laboratorio de nivel 2 de bioseguridad y un personal especializado y debidamente entrenado (Ruiz *et al.*, 2020) (Hart S., 2020).

- b) Pruebas inmunológicas: Las pruebas inmunológicas se dividen a su vez en distintas técnicas con procedimientos y muestras distintas, entre los que se incluyen ensayos inmunoenzimáticos y las también llamadas pruebas rápidas o ensayos serológicos, en su mayoría son llevados a cabo por inmunocromatografía de flujo lateral (FL) (Vázquez P, 2020) (Hart S., 2020).
- 1. Antígeno (Ag): La detección de antígenos es un tipo de prueba diagnóstico rápido la cual detecta la presencia de proteínas virales (antígenos) expresadas por el virus de la COVID-19, requiere disponer de anticuerpos específicos como herramientas de diagnóstico. Se basa en la detección de las proteínas estructurales S y N, que las detectan cuando se lleva a cabo la captura del virus. En una muestra del tracto respiratorio, si el antígeno está presente en concentraciones suficientes en la muestra, se unirá a anticuerpos específicos fijados a una matriz en una tira de papel dentro de un cubículo de plástico generando una señal visualmente detectable a los 30 minutos aproximadamente, puede ser un poco más o menos según la marca del kit (Vázquez P., 2020) (Hart S., 2020).

Existe una diversidad de inmunoensayos aptos para detectar antígenos, pero la inmunocromatografía ofrece buenas opciones de rapidez (Sotomayor *et al.*, 2020). La

carga viral de SARS-CoV-2 en la nasofaringe suele ser suficientemente alta desde los primeros días de la infección, aunque la eficiencia del ensayo dependerá de la calidad del anticuerpo monoclonal usado y del diseño de la prueba inmunocromatográfica (Pizarro M., 2020) (Santella T., 2020).

La familia coronaviridae en general, poseen una envoltura glicoproteica y su genoma se conforma de una hebra de RNA no segmentada de polaridad positiva y el SARS-CoV-2 no es a excepción, pues codifica proteínas estructurales como la glicoproteína S (espículas o spike), una proteína de envoltura E, la glicoproteína de membrana M y la proteína de la nucleocapside N. El coronavirus, causante del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) codifica esta proteína trimérica de superficie S que media la entrada en células del huésped (Wang *et al.*, 2021).

Las infecciones respiratorias agudas desde siempre han producido una importante morbimortalidad en distintos grupos etarios, son provocadas por diversos patógenos ya sea de origen bacteriano o bien muy comúnmente son causadas por virus (Marcone D *et al.*, 2015).

En estos tiempos de crisis sanitaria por la pandemia disponer de pruebas que ayuden a un diagnóstico temprano e incluso detectar pacientes asintomáticos, así como obviamente los sintomáticos es una de las claves para disminuir los contagios, evitar la propagación y tomar decisiones adecuadas como la toma de cuarentenas y aislamiento social, por ejemplo, claro siempre en conjunto de medidas adecuadas de higiene y prevención (Hart S., 2020). Los métodos diagnósticos juegan un papel crucial que están marcando el rumbo de la sociedad en esta pandemia ya que ponen sobre la mesa el impacto que tiene sobre nuestra vida la presencia del SARS-CoV-2, hasta el momento se cuentan con métodos diagnósticos

moleculares e inmunológicos, estos últimos resaltan por su capacidad de arrojar resultados certeros aun cuando no haya presencia de síntomas, lo cual pone en evidencia cifras más reales en cuanto al número de infectados. (Valencia *et al.*, 2020) (Marccone *et al.*, 2015).

Haciendo una comparativa entre las pruebas a las que hoy en día se les ha otorgado más uso y confiabilidad por su gran seguridad y eficacia, como lo son las moleculares y en este caso las inmunológicas que son el tema central, las pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) es la prueba diagnóstica de referencia en el diagnóstico de la COVID-19, pero no está exenta de problemas de desempeño ya que un alto porcentaje de las personas enfermas pueden tener un resultado negativo. Otros aspectos relativos a la infraestructura necesaria y a los costos dificultan la masificación de su uso (Valencia *et al.*, 2020) (Marccone *et al.*, 2015). Su gran ventaja es que pueden detectar la presencia del virus desde una semana antes y hasta una semana después de la aparición de los síntomas. Sin embargo, se debe pensar en qué ocurre con los individuos asintomáticos que no son sometidos a ningún tipo de prueba diagnóstica que ignoran si fueron infectados o no, y en qué momento fueron infectados. Para este grupo existen las pruebas que detectan la respuesta inmunológica del individuo. (Valencia *et al.*, 2020) En este mismo contexto la infección por virus SARS-CoV-2 se comporta de manera distinta en niños versus adultos, un porcentaje importante de los niños son asintomáticos o presentan síntomas muy leves que se pueden confundir con lo que comúnmente llamamos “resfriado común”, por otro lado hay adultos que se muestran asintomáticos por factores diversos, por lo que estas pruebas diagnósticas de tipo inmunológico cobran mayor importancia en este grupo. Hasta la fecha los pacientes

pediátricos se comportan con menor severidad en comparación con pacientes adultos (Pizarro M., 2020).

Esto ha motivado la búsqueda de alternativas, más operativas y económicas por lo cual se han aprobado estudios inmunológicos que detectan la presencia de antígenos virales. Con el fin de abarcar la mayor población posible, sin distinción de edades y/o presencia de síntomas (Marccone *et al.*, 2015).

2. Anticuerpo (Ac): Para detectar un antígeno del patógeno en una muestra del paciente. (Vázquez P., 2020). Son ensayos cualitativos donde se analizan los niveles de inmunoglobulina, de manera que se mide la concentración de los distintos anticuerpos. Nuestro sistema inmunológico, que es el encargado de defendernos de las enfermedades, fabrica anticuerpos para del SARS-CoV-2. Frente a una infección de dicho patógeno se genera Inmunoglobulina G (IgG) que se encuentra en la sangre principalmente y brinda la protección contra infecciones virales y la Inmunoglobulina M (IgM) que se encuentra en la sangre y líquido linfático, es el primer anticuerpo que se forma para combatir la infección (Costa M., 2021) (Nelson., *et al.*, 2020).

Esta prueba permite evaluar las concentraciones de estos diferentes tipos de inmunoglobulinas y saber si se está protegido contra el virus SARS-CoV-2 al tener anticuerpos desarrollados. Los niveles de anticuerpos empiezan a incrementarse conforme la enfermedad avanza. Una vez que se produce un anticuerpo como respuesta a un agente específico, la próxima vez que éste ingresa al cuerpo, el sistema inmunológico lo identifica y “recuerda” la respuesta de defensa, produciendo los mismos anticuerpos que la vez anterior (Aguilar *et al.*, 2020) (Costa M, 2021).

Se analiza el nivel del IgG e IgM de manera que se identifica la existencia de inmunoglobulina activa (IgM) como respuesta a la infección que se está cursando (COVID-19), es decir una infección aguda, o bien si existe inmunoglobulina “de memoria” (IgG) creada contra el COVID-19, que daría como respuesta que se cursó la enfermedad y ya se tiene una respuesta de defensa en el sistema inmunológico. Para estas pruebas se puede utilizar muestras de suero, plasma o sangre total (Aguilar *et al.*, 2020) (Costa M, 2021).

Se plantea que es tan compleja la sintomatología del perfil de COVID-19, que las pruebas serológicas de IgG e IgM específicas a SARS-CoV-2 no deben utilizarse como diagnóstico definitivo, sino que siempre es necesario el análisis molecular genético (Aguilar *et al.*, 2020).

- c) **Métodos diagnósticos complementarios:** Algunos ensayos complementarios son de ayuda para disponer de un resultado más certero son por ejemplo, radiografía de tórax en pacientes con disnea, polipnea, desaturación, auscultación alterada, y en pacientes hospitalizados que presenten con los orientan al diagnóstico imágenes de infiltrado intersticial y sombras en parche de predominio periférico en estados iniciales de neumonía, en casos severos infiltrados difusos, vidrio esmerilado, consolidación, y en forma más infrecuente derrame pleural (Pizarro M., 2020).

En un TAC de tórax, pueden observarse opacidades en vidrio esmerilado, condensaciones segmentarias, especialmente periféricas. En pacientes hospitalizados se describe hasta 50% de compromiso bilateral y signo del halo rodeando consolidaciones (Pizarro M., 2020).

4.6 Pruebas de antígeno aprobadas para su uso en México

Los kits que se ofrecen en el mercado consisten en pruebas de tipo cualitativas que por medio de la inmunocromatografía detectan los antígenos de la nucleoproteína. Se basa en la detección de las proteínas estructurales como sería la proteína S y los dominios S1 o S2 de la proteína S (spike), en caso de detección completa del virus, o la proteína N para detección de partes o fragmentos del virus, mediante el uso de anticuerpos específicos, que las detectan cuando capturan al virus. Lo que sucede es que en estas tarjetas o kits hay una membrana de nitrocelulosa a la cual se han fijado de manera previa anticuerpos, normalmente se utilizan anticuerpos monoclonales, de origen murino, que constituyen un reactivo homogéneo y que se seleccionan buscando características óptimas de especificidad y afinidad. Este tipo de prueba puede ser utilizada en pacientes asintomáticos y con infección temprana ya que solo se detecta positiva cuando el virus se replica, por lo tanto, son muy útiles para pesquisas, pero su desempeño depende de la calidad en que se tomen la muestra y la precisión del kit diagnóstico que se disponga. (Hart S., 2020).

Presentan una sensibilidad superior al 90% y una especificidad superior al 95% en pacientes sintomáticos con menos de 7 días de evolución. (La lectura se hace en pocos minutos) y simplicidad (no requiere aparatos ni personal especialmente entrenado). La detección de antígenos es menos sensible que la RT-PCR, pero la carga viral de SARS-CoV-2 en la nasofaringe suele ser suficientemente alta desde los primeros días de la infección como para compensar esa menor sensibilidad, aunque la eficiencia del ensayo dependerá de la calidad del anticuerpo monoclonal usado y del diseño de la prueba inmunocromatográfica. La interpretación de las pruebas serológicas debe realizarse con cautela, teniendo en cuenta sus limitaciones, y evaluarlas acorde a

la situación clínica del paciente y de los resultados de la prueba de referencia, de manera personalizada basados en la historia clínica del paciente (Hart S, 2020).

Cada uno de los elementos que constituye un kit para una prueba de flujo lateral tiene una función y un propósito específico. Los componentes se superponen unos con otros montándose en una estructura plástica, que a su vez se coloca en un casete para poder hacer uso de la prueba (Traina M., 2015).

La tira reactiva que es por donde atraviesa la muestra y donde se hace la lectura se conforma por distintas zonas de almohadillas cada una de diferente material, estas almohadillas también las podemos llamar “pads” conocidas así en el idioma inglés (Véase Figura 4). Al realizar el ensayo la muestra se coloca en un extremo donde está ubicado el pad o la almohadilla diseñada para la muestra, de ahí continua hasta el siguiente pad donde se va a encontrar con partículas de látex coloreado o de oro coloidal que de manera previa se conjugaron con alguno de los elementos biológicos como los anticuerpos en el caso de la detección de antígenos. En la pad hay un conjugado seco que esta inmovilizado en esta sección de la tira la cual se solubiliza y se hidrata con la muestra e interactúan entre sí, formando un complejo antígeno- anticuerpo. En este punto, por capilaridad la mezcla producida entre la muestra y el conjugado del complejo antígeno- anticuerpo continua su trayecto hacia una membrana de nitrocelulosa que funge como una matriz de reacción, esta membrana se caracteriza por su porosidad, aquí se encuentra otro componente biológico inmovilizado, en el caso particular de la búsqueda de antígenos, estos componentes son anticuerpos ubicados en la línea T, donde se captura al analito en cuestión a medida que pasa por la membrana, en esta línea T, que al unirse con el complejo anterior forma lo que se conoce como “sándwich” que es cuando el antígeno de superficie queda intermedio entre los dos reactivos de anticuerpos altamente específicos. Aquí es donde se manifiesta la reacción más importante ya que

al formarse el Sándwich se emite una coloración en la línea T, dando como resultado que el paciente presenta antígenos de superficie del SARS-CoV-2 (Traina M., 2015).

Ya echa la reacción el exceso de reactivos continua su trayecto por capilaridad hasta llegar a la línea C o de “control”, donde se encuentra con proteínas que ocupan un papel de ligandos que van a reaccionar con el oro coloidal o el látex coloreado conjugado con el anticuerpo específico, el cual por medio de la fracción cristalizada del anticuerpo, se une y emite de igual manera una línea con coloración, se forma en el cien por ciento de los casos, ya que la línea control garantiza la veracidad del ensayo y de que se está realizando en un kit de buena calidad, de lo contrario hay que verificar fechas de caducidad, si la realización de la prueba fue correcta, si la muestra era viable y correctamente tomada etc. (Traina M., 2015).

Si la muestra no presenta antígenos de superficie no se formará el complejo antígeno-anticuerpo en el primer pad, por tanto, no se verá expresado en la región T, pero si en la región C de control, esto nos habla de un resultado negativo (Véase Figura 5) (Traina M., 2015).



Figura 4 Anatomía de un ensayo de flujo lateral. La muestra añadida por el extremo proximal migra hacia donde se encuentra un conjugado de oro coloidal o látex, se solubiliza con el conjugado en seco. El analito interactúa con el conjugado, esta mezcla continua hacia la membrana de nitrocelulosa (matriz de reacción) donde se captura el analito y el conjugado a medida que pasa a través de la membrana. Tomado de Traina M., (2015).

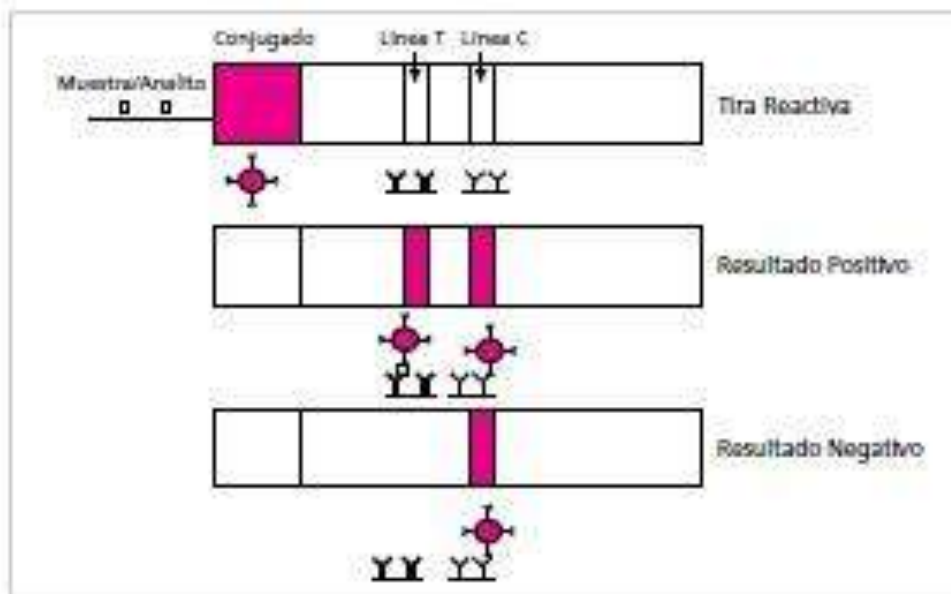


Figura 5 Interpretación de resultados.

- Positivo: si aparecen dos líneas de color, una en la zona de control (C) y otra en la zona de test (T), el resultado es válido y positivo.
- Negativo: si aparece una línea de color en la zona de control (C) pero no se observa ninguna línea de color en la zona de test (T), el test es válido y negativo.
- Inválido: si no aparece ninguna línea de color en la zona de control (C), el test es inválido y habría que repetir la prueba con otro test. Tomado de Traina M., (2015).

4.7 Condiciones bajo las que se realiza la prueba

Las pruebas se realizan en inmunoensayos de flujo lateral utilizando muestras de material nasofaríngeo u orofaríngeo. Una de las ventajas de las pruebas de antígeno es que están disponibles en kits rápidos que son fáciles de usar y pueden proporcionar resultados en minutos. Sin embargo, dado que no replican secuencias de ARN virales, existe preocupación por una posible baja sensibilidad de la prueba, comparada contra una prueba reina o “gold standard”, como el RT-PCR (Santella T., 2020).

El listado de pruebas según informes de evaluación comparativa preliminar, útiles para la detección de SARS-CoV-2 en puntos de atención durante la contingencia de COVID-19 en México basados en la sensibilidad (tasa de verdaderos positivos, cuanto mayor es la sensibilidad del test, más enfermos serán diagnosticados adecuadamente, con lo que la tasa de falsos negativos será menor) y especificidad (es lo que se llama tasa de verdaderos negativos, cuanto mayor es la especificidad del test, más sanos serán diagnosticados adecuadamente, con lo que la tasa de falsos positivos será menor) de cada una de ellas son las siguientes (Véase Figura 6,7,8 y 9) (Secretaría de salud., 2022.).

Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 durante la contingencia de COVID-19 en México

Nombre de la Prueba	No. Catálogo	Fabricante	Solicitante	Sensibilidad (Concordancia positiva)	Especificidad (Concordancia negativa)	Antígeno Detectado	Instrumento requerido	Oficio / Informe de Evaluación Comparativa
COVID-19 Ag Detection Kit (Colloidal Gold Immunochromatography)	41A254	ImmunoDiagnostics Limited	Seegene México, S.A.P.I. de C.V.	91.36% (IC95 83.00% a 96.45%)	99.04% (IC95 94.76% a 99.98%)	Nucleocápside	Ninguno	DGE-DSAT-07802-2022
Rapid™ Response COVID-19 Antigen Rapid Test Device	COV-19C25	BTNX, Inc.	2H MEDGLOBAL, S.A. de C.V.	87.66% (IC95 82.76% a 91.58%)	97.78% (IC95 93.64% a 99.54%)	Nucleocápside	Ninguno	DGE-DSAT-04611-2022
Edinburgh Genetics ActivXpress+ COVID-19 Antigen Complete Testing Kit	EGCV0101, EGCV0101A, EGCV0101B, EGCV0101M, EGCV0101MA, EGCV0101MB	Edinburgh Genetics Limited	AXMILAB, S.A. de C.V.	80.34% (IC95 74.66% a 85.23%)	95.53% (IC95 92.14% a 97.75%)	Nucleocápside	Ninguno	DGE-DSAT-03143-2022
CLUNGENSE® COVID-19 Antigen Rapid Test Cassette	ICOV5002-100596	Hangzhou Clongene Biotech Co., Ltd.	PRENEVE LATINOAMERI CA, S.A. de C.V.	80.68% (IC95 74.07% a 86.24%)	98.67% (IC95 96.92% a 99.57%)	Nucleocápside	Ninguno	DGE-DSAT-02073-2022
Exdia COVID-19 Ag	PR-FC13	Precision Biosensor Inc.	AXMILAB, S.A. de C.V.	88.10% (IC95 77.07% a 95.09%)	99.63% (IC95 97.93% a 99.99%)	Nucleocápside	Exdia TRF Plus	DGE-DSAT-01925-2022
PBCheck COVID-19 Ag	PR-GC02	Precision Biosensor Inc.	AXMILAB, S.A. de C.V.	83.08% (IC95 71.73% a 91.24%)	95.68% (IC95 90.84% a 98.40%)	Nucleocápside	Ninguno	DGE-DSAT-01924-2022
STANDARD Q COVID-19 Ag Nasal Test	Q-NCOV-04G	SD Biosensor Inc.	Kana Undesa, S.A. de C.V.	91.50% (IC95 86.74% a 94.97%)	98.55% (IC 95 96.65% a 99.53%)	Nucleocápside	Ninguno	DGE-DSAT-17839-2021
NEOGEN® SARS-CoV-2 Ag	INS201	Interbio, S.A. de C.V.	Interbio, S.A. de C.V.	82.02% (IC95 72.45% a 89.36%)	99.55% (IC95 98.69% a 99.91%)	ND	Ninguno	DGE-DSAT-17235-2021

Francisco de P. Miranda No. 777, Col. Lomas de Plateros, D.T. Álvaro Obregón, CP. 01480, Ciudad de México. Tel: (55) 5342 7550 y (55) 5062 1600 Ext. 59338 y 59426 www.gob.mx/salud



Figura 6. Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 en puntos de atención. Informes de evaluación comparativa preliminar de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 en puntos de atención, durante la contingencia de COVID 19 en México. Tomado de Secretaría de salud., (2022).

Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 durante la contingencia de COVID-19 en México

Nombre de la Prueba	No. Catálogo	Fabricante	Solicitante	Sensibilidad (Concordancia positiva)	Especificidad (Concordancia negativa)	Antígeno Detectado	Instrumento requerido	Oficio / Informe de Evaluación Comparativa
COVID-19 Antigen Rapid Test Cassette	COVID19AGVC	SureScreen Diagnostics Ltd.	CREA HCS, S.A. de C.V.	86.02% (IC95 77.28% a 92.34%)	95.30% (IC95 92.91% a 97.07%)	ND	Ninguno	DGE-DSAT-17234-2021
BD Veritor™ System For Rapid Detection of SARS-CoV-2	256089	Becton, Dickinson and Company	Becton Dickinson de México, S.A. de C.V.	84.38% (IC95 73.14% a 92.24%)	99.45% (IC95 96.96% a 99.99%)	ND	BD Veritor™ Plus Analyzer	DGE-DSAT-17233-2021
SGTi-flex COVID-19 & Flu A/B Ag DUO	CAGD025E, CAGC001E, IFNC001E	SUGENTECH, INC.	Seegene México, S.A.P.I. de C.V.	80.82% (69.92% a 89.10%)	99.32% (98.02% a 99.86%)	ND	Ninguno	DGE-DSAT-14690-2021
InstaView COVID-19 Antigen	R3002	SG Medical Inc.	Seegene México, S.A.P.I. de C.V.	82.86% (71.97% a 90.82%)	100.00% (99.07% a 100.00%)	ND	Ninguno	DGE-DSAT-14689-2021
Covisure® SARS-CoV-2 Test de Antígeno	MPAYB-10925	W.H.P.M., Inc.	Grupo Orutek, S.A. de C.V.	87.71% (83.46% a 91.20%)	95.32% (90.99% a 97.96%)	ND	Ninguno	DGE-DSAT-14686-2021
VivaDiag™ Pro SARS-CoV-2 Ag Rapid Test	VCD16-01-011/ VCD16-01-012/ VCD16-01-013	VivaChek Biotech (Hangzhou) Co., Ltd.	Biotechnological solutions, S.A. de C.V.	85.37% (IC95 70.83% a 94.43%)	100.00% (IC95 99.04% a 100.00%)	ND	Ninguno	DGE-DSAT-13831-2021
Sofia® 2 FLU+SARS Antigen FIA	20377	Quidel Corporation	Kabla Comercial, S.A. de C.V.	83.33% (IC95 65.28% a 94.36%)	99.04% (IC95 97.56% a 99.74%)	Nucleocápside	Sofia 2	DGE-DSAT-13527-2021
FlowFlex™ SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	L031-11815	ACON Laboratories, Inc.	TRIALA MED, S.A. de C.V.	85.43% (IC95 78.78% a 90.64%)	96.19% (IC95 93.68% a 97.90%)	Nucleocápside	Ninguno	DGE-DSAT-13526-2021

Francisco de P. Miranda No. 777, Col. Lomas de Plateros, D.T. Álvaro Obregón, CP. 01480, Ciudad de México. Tel: (55) 5342 7550 y (55) 5062 1600 Ext. 59338 y 59426 www.gob.mx/salud



Figura7. Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 en puntos de atención. Informes de evaluación comparativa preliminar de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 en puntos de atención, durante la contingencia de COVID 19 en México. Tomado de Secretaría de salud., (2022).

Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 durante la contingencia de COVID-19 en México

Nombre de la Prueba	No. Catálogo	Fabricante	Solicitante	Sensibilidad (Concordancia positiva*)	Especificidad (Concordancia negativa*)	Antígeno Detectado	Instrumento requerido	Oficio / Informe de Evaluación Comparativa
CLINITEST® RAPID COVID-19 Antigen Test	GCCOV-502a	Healgen Scientific Limited Liability Company	Siemens Healthcare Diagnostics, S. de R.L. de C.V.	80.00% (IC95 65.40% a 90.42%)	99.49% (IC95 98.18% a 99.94%)	No especificado	No requiere	DGE-DSAT-12117-2021
SARS-CoV-2 Antigen Assay Kit (Colloidal Gold Method)	2061701	Zybio Inc.	B&S Servicios Integrales, S.A. de C.V.	84.62% (IC95 74.67% a 91.79%)	98.12% (IC95 96.17% a 99.24%)	No especificado	No requiere	DGE-DSAT-11025-2021
Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device (NASAL)	41FK11, 41FK21	Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH	Abbott Laboratories de México, S.A. de C.V.	94.12% (IC95 83.76% a 98.77%)	100.00% (IC95 99.23% a 100.00%)	Proteína de Nucleocápside	No requiere	DGE-DSAT-10552-2021
ECOTEST COVID-19 Antigen Rapid Test Device (Nasopharyngeal/Oropharyngeal Swab)	COV-S23	Assure Tech. (Hangzhou) Co., Ltd.	PHL LABORATORIOS, S.A. de C.V.	90.76% (84.06% a 95.29%)	98.80% (97.22% a 99.61%)	Nucleoproteína	No requiere	DGE-DDYR-09909-2021
2019-nCoV Antigen Test Kit (Colloidal Gold)	52026082	Genrui Biotech Inc.	ATYDE MÉXICO, S.A. de C.V.	84.75% (IC95 73.01% a 92.78%)	98.98% (IC95 97.40% a 99.72%)	Nucleocápside	No requiere	DGE-DSAT-02798-2021
COVI-STIX™ COVID-19 Virus Rapid Antigen Detection Test	CE-COV-ST01	Zhengzhou Fortune Bioscience Co. Ltd.	Landsteiner Scientific, S.A. de C.V.	91.89% (IC95 83.18% a 96.97%)	99.23% (IC95 97.77% a 99.84%)	Nucleocápside	No requiere	DGE-DSAT-02797-2021
COVID-19 Antigen Rapid Test Cassette	INCP-C81	HANGZHOU BIOTEST BIOTECH CO. LTD.	CAMPAÑAS DE PREVENCIÓN E INFORMACIÓN MEDICA PREVITA, S.A. de C.V.	82.54% (IC95 70.90% a 90.95%)	100.00% (IC95 98.77% a 100.00%)	Nucleocápside	No requiere	DGE-DSAT-05711-2021

Figura 8. Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 en puntos de atención. Informes de evaluación comparativa preliminar de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 en puntos de atención, durante la contingencia de COVID 19 en México. Tomado de Secretaría de salud., (2022).

Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 durante la contingencia de COVID-19 en México

Nombre de la Prueba	No. Catálogo	Fabricante	Solicitante	Sensibilidad (Concordancia positiva*)	Especificidad (Concordancia negativa*)	Antígeno Detectado	Instrumento requerido	Oficio / Informe de Evaluación Comparativa
CerTest SARS-CoV-2 Ag Test	SC820001PC	CerTest Biotech, S.L.	Kabla Comercial, S.A. de C.V.	81.82% (IC95 67.29% a 91.81%)	98.97% (IC95 97.37% a 99.72%)	Antígenos virales	No requiere	DGE-DDYR-05438-2021
GeneFinder™ COVID-19 Ag Rapid Test	INF01ACA	OSANG Healthcare Co. Ltd.	Landsteiner Scientific, S.A. de C.V.	90.16% (IC95 79.81% a 96.30%)	97.72% (IC95 95.36% a 99.08%)	Antígenos virales	No requiere	DGE-DDYR-05437-2021
SARS-CoV-2 Antigen Test Kit (Colloidal Gold)	52026075 y controles 52104084 52104085	Genrui Biotech Inc.	DIAMAN MEDICAL, S.A. de C.V.	80.95% (IC95 72.13% a 87.96%)	98.78% (IC95 96.46% a 99.75%)	Proteínas virales	No requiere	DGE-DSAT-03716-2021
SARS-Cov2 Antigen Rapid Test System	RT45-2214	Monocent, Inc.	RABADOUB, S.A. de C.V.	83.21% (IC95 78.19% a 87.48%)	95.28% (IC95 91.71% a 97.62%)	Proteína de Nucleocápside	No requiere	DGE-DSAT-00009-2021
SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test	9901-NCOV-01G	SD Biosensor, Inc.	Productos Roche, S.A. de C.V.	88.66% (IC95 80.61% a 94.20%)	98.97% (IC95 96.34% a 99.88%)	Proteína de Nucleocápside	No requiere	DGE-DSAT-00008-2021
STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test	Q-NCOV-01G	SD Biosensor, Inc.	Kana Undesa, S.A. de C.V.	93.12% (IC95 88.03% a 96.52%)	100% (IC95 98.17% a 100%)	Proteínas virales	No requiere	DGE-DSAT-16490-2020
Panbio™ COVID-19 Ag RAPID Test Device	41FK10	Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH	Abbott Laboratories de México, S.A. de C.V.	85.0 (IC 95% 75-91)	99.0 (IC 95% 96-100)	Proteína de Nucleocápside	No requiere	DGE-DSAT-14935-2020
Sofia2 SARS Antigen FIA	20374	Quidel Corporation	Kabla Comercial, S.A. de C.V.	90.0 (IC 95% 80-95)	97.0 (IC 95% 93.0-99.6)	Proteína de Nucleocápside	Sofia 2	DGE-DSAT-14202-2020

Figura 9. Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 en puntos de atención. Informes de evaluación comparativa preliminar de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 en puntos de atención, durante la contingencia de COVID 19 en México. Tomado de Secretaría de salud., (2022).

La toma o recogida de muestra para llevar a cabo una prueba de antígenos debe llevarse a cabo mediante ciertos criterios que se deben cumplir al pie de la letra, esto para garantizar la seguridad tanto del paciente como del personal de salud que realice el procedimiento, también se debe pensar y tener como objetivo principal obtener una muestra viable y de calidad para así mismo obtener un resultado confiable (Vázquez P.,2020).

La OMS tiene requerimientos establecidos en cuanto al uso de equipos de protección personal (EPP) que incluye protección ocular, mascarilla o respirador adecuado como el KN95 o FFP2, careta para la protección facial completa, guantes, batas y cubrecalzado desechables, existe una técnica que indica el orden de colocación y retirado de cada uno de los elementos que conforma el EPP (Véase Figura 10) (Vázquez P.,2020).

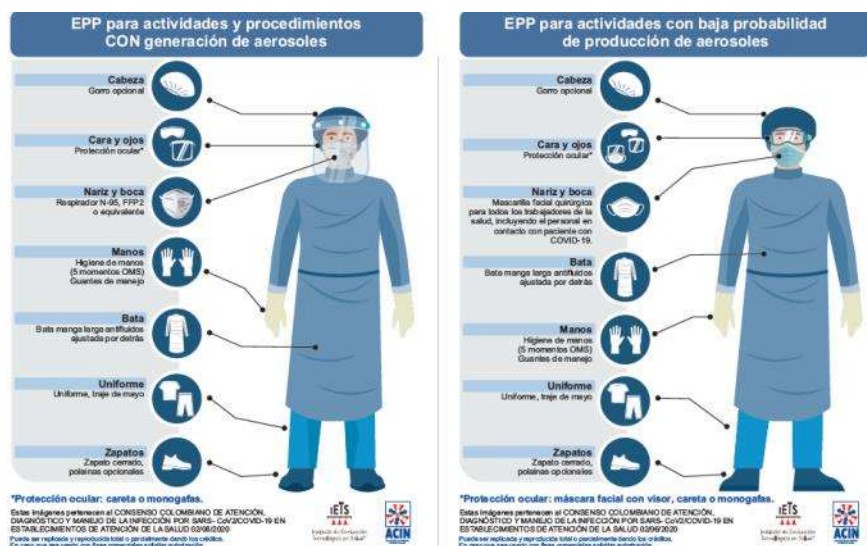


Figura 10. Equipo de protección personal. La indumentaria correspondiente es de acuerdo a las actividades a realizar, ya sea con exposición o no de aerosoles. Tomado de ministerio de salud y protección social Bogotá. (2020).

Las muestras idóneas son aquellas que se recolectan en el tracto respiratorio superior como lo son los hisopados nasofaríngeos u orofaríngeos, si las muestras no se van a procesar en seguida se deben guardar los hisopos en un tubo con transporte viral y refrigerarse a una temperatura de entre 4-8°C y evitar rebasar las 72 horas para llevar a cabo el procedimiento, si por alguna razón

no se pueden procesar en este lapso, lo recomendado es llevar a congelación a -70°C . El procesamiento de las muestras varía, pero si es necesario retrasar el análisis, deben refrigerarse o congelarse para impedir la proliferación de contaminantes bacterianos. Caso contrario si la muestra se procesa en seguida, los Kits vienen con un tubo de extracción dónde se coloca el hisopo, ahí mismo se realiza la preparación de la muestra ya que este tubo contiene una solución o buffer que se mezcla con la muestra y con la que se facilita la dosificación al momento de insertar la muestra en el casete, generalmente cada prueba lleva descrito que cantidad requiere (Vázquez P.,2020).

5. Conclusiones

1. Obtener un diagnóstico adecuado y a tiempo de una infección por SARS-CoV-2 es de suma importancia ya que así podemos evitar la propagación y con ello identificar la población sana, la población en riesgo y la población contagiada. Debemos recordar que es un virus nuevo en humanos y por ende no contamos con inmunidad previa siendo este un factor considerable para elevar la tasa de infección.
2. Las medidas de salubridad que se deben realizar de manera individual y grupal como lo son el aislamiento y distanciamiento social, el uso de mascarillas adecuadas, el lavado de manos, etc. no son suficientes, por ello contar con una estandarización de pruebas diagnósticas que arrojen resultados confiables además de rápidos es crucial, y a lo largo del tiempo que llevamos en pandemia se han ido modificando y sobre todo agilizando estos procedimientos, como lo son la pruebas con fundamento inmunológico.
3. Sin duda las pruebas que detectan antígenos es de los métodos más utilizados dado que contiene más aspectos positivos que negativos, siendo estas de fácil de procesamiento, requiere menos infraestructura dentro del laboratorio e incluso no llega a necesitar de un laboratorio y lo más importante consume menos tiempo que cualquiera de los demás métodos diagnósticos, siendo esto un plus y haciendo eficaz la detección en cualquiera de los casos tanto sintomáticos como asintomáticos, además de que hoy en día en México contamos con una amplia gama de distintas marcas que ofrecen este tipo de kits de pruebas.

6. Referencias bibliográficas

1. Aguilar p., Enríquez Y., Quiroz C., Valencia E., De Leon J. y Pareja A. (2020). Pruebas diagnósticas para la COVID-19: la importancia del antes y el después. *Scielo*,20(2),1-5.
<https://doi.org/10.24265/horizmed.2020.v20n2.14>
2. Cann A. J. (2015) *Principles of Molecular Virology*. Elsevier.
https://books.google.com.mx/books?id=6e6cBAAQBAJ&pg=PR2&dq=alan+j+cann&hl=es419&sa=X&ved=2ahUKEwjcv_LR18rxAhWnnGoFHBquAHIQ6wF6BAgHEAE#v=onepage&q=alan%20j%20cann&f=false
3. CDC. (28 de Octubre de 2020). *Centers for Disease Control and Prevention*. Obtenido de CDC:<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>
4. Costa Med (2021) COVID-19 Testing. *Grupo medico COSTAMED*.
[https://www.costamed.com.mx/covid-19/tipos-de-pruebas-de-deteccion-covid-19#:~:text=Prueba%20PCR%20\(Reacci%C3%B3n%20en%20Cadena,19%20en%20el%20ser%20humano.](https://www.costamed.com.mx/covid-19/tipos-de-pruebas-de-deteccion-covid-19#:~:text=Prueba%20PCR%20(Reacci%C3%B3n%20en%20Cadena,19%20en%20el%20ser%20humano.)
5. Fernández-Camargo, D. A., & Morales-Buenrostro, L. E. (2020, mayo 24). Biología del SARS-CoV-2. *Revista Mexicana de trasplantes*, 9
<https://www.medigraphic.com/pdfs/trasplantes/rmt-2020/rmts202b.pdf>
6. Hart-sazares M. (2020). Diagnóstico microbiológico de SARS-COV 2. *Revista cubana de medicina*.59(2).1-5. <https://orcid.org/0000-0002-2966-7437>
7. Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 19, Issue 3, pp. 141–154). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>

8. LlumiQuinga T., (2021). Eficacia de pruebas cualitativas para la detección de Covid-19 año 2021. *Universidad Central del Ecuador*.
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/26541/1/UCE-FCQ-CBC-LLUMIQUINGA%20TATIANA.pdf>
9. Lopez J., Y Manjarrez M. (2015). *Microbiología, Bacteriología y Virología*. (2nd Ed). pp594-600.
10. Marcone D., Carballal G., Ricarte C., Echavarria M. (2015) Respiratory viral diagnosis by using an automated system of multiplex PCR(FilmArray) compared to conventional methods. *Elsevier*. 47(1).30-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2014.12.003>
11. MSP, M. de S. P. (2020). *Coronavirus COVID-19*. Dirección de Vigilancia Epidemiológica. <https://www.salud.gob.ec/coronavirus-covid-19/>
12. Nelson S., Ehnert S., Gromski P., Child T. y Trew G. (2020) SARS-Cov-2 viral and serological screening of staff in 31 European fertility units. *Human Reproduction Open*. 00(0),1-7. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa056>
13. Pacora L., (2020). *COVID-19, LA PANDEMIA POR EL CORONAVIRUS: Enfrentando un enemigo invisible*. Independently published.
https://books.google.com.mx/books?id=2mYJEAQAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
14. Pastrian-Soto, G. (2020, septiembre). *Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune*. Scielo. Retrieved Abril 21, 2021, from
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718381X2020000300331&script=sci_arttext&tlng=en
15. Perez-Bejarano D., et al. (2021) Diagnostic performance of serological test, antibody response and correlation with characteristics clinics in health workers with COVID-19 of

the General Hospital of Luque. *Rev. salud publica Paraguay*.11(1),8-9.

<http://dx.doi.org/10.18004/rspp.2021.junio.8>

16. Pizarro M.(2020) Clinic and diagnosis SARS-COV-2. *Sociedad chilena de neumología pediátrica*.15(2), 324-326. <https://doi.org/10.51451/np.v15i2.67>
17. Ruiz A., y Jimenez M., (2020) SARS-CoV-2 and acute respiratory síndrome pandemic (COVID-19. *Scielo*, vol.61 (no.2), <https://dx.doi.org/10.30827/ars.v61i2.1517>
18. Ruiz-Bravo A.y Jimenez-Valera M. (2020) SARS-CoV-2 y pandemia de síndrome respiratorio agudo (COVID-19). *ARS Pharmaceutica*.61(2),73-74.
<http://dx.doi.org/10.30827/ars.v61i2.15177>
19. Santaella-Tenorio J. (2020) SARS-CoV-2 diagnostic testing alternatives for Latin America. *Colombia médica*. 51(2),1-4. <https://doi.org/10.25100/cm.v51i2.4272>
20. Sotomayor F., Corbacho J., Valiente A., Benitez Y.y Viera T.(2020). General aspects about the structure of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Scielo*.39(3). 1-5. https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES
21. Secretaria de salud. (2022). Listado de pruebas de antígeno, útiles para SARS-CoV-2 durante la contingencia de COVID-19 en México. *Gobierno de México*.
<https://www.gob.mx/salud/documentos/listado-de-pruebas-de-antigeno-para-sars-cov-2>
22. Toro Montoya, A. I., & Días Castrillón, F. J. (2020). SARS-CoV-2/COVID-19: The virus, the disease and the pandemic. *Medicina & Laboratorio*.
<https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/268/256>

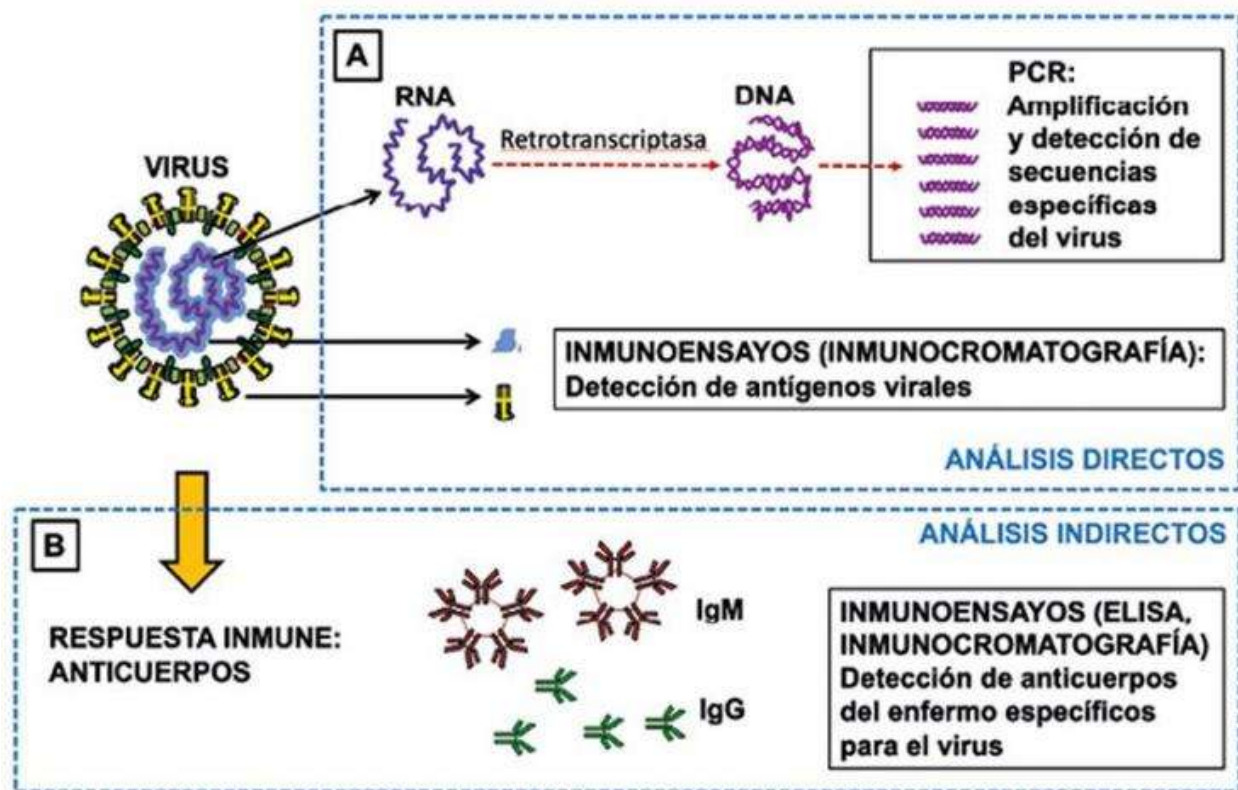
23. Traina M., y Felcaro M. (2015). Ensayos rapidos inmunocromatograficos de flujo lateral. NotiWiener Digital. <https://notiwiener.net/2015/04/ensayos-rapidos-inmunocromatograficos-de-flujo-lateral/>
24. Trilla, A. (2020). Un mundo, una salud: La epidemia por el nuevo coronavirus COVID-19. *Medicina Clinica*, 175-177. Obtenido de Elsevier: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-pdf-S002577532030141X>
25. Valencia R., Amorin B., Gonzalez-Zubiate F., Juscamaita K., Sevillano O. y Ramos-Sanchez E.(2020). Pruebas rápidas para COVID-19, la mejor alternativa para Ecuador.*Bonatura*. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2020.05.03.21>
26. Vazquez-Pertrejo M. (2020). *Pruebas inmunologicas para las enfermedades infecciosas*. Manual MSD.<https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-inmunol%C3%B3gicas-para-las-enfermedades-infecciosas>
27. Velazco E. y Bolaños M. (2021). Diagnostico por el laboratorio del SARS-COV-2. UPRESS. <https://upress.mx/index.php/noticias/universidad/comunidad/5906-diagnostico-por-el-laboratorio-del-sars-cov-2>
28. Wang Z. Lorenzi J., Muecksch., Finkin S., Viant Ch., Gaebler Ch., Cipolla M., Hoffman H., Olivera T., Oren D., Ramos., Nogueira L., Michailidis E., Robbiani D., Gazumyan A., Rice Ch., Hatzioannou., Bieniasz P., Caskey M., Nussenzweig M. (2021). Enhanced SARS-CoV-2 neutralization by dimeric IgA. *SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE*.13,1-4. DOI:10.1126/scitranslmed.abf1555
29. Weisblum Y., et al (2020) Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. *PubMed*. DOI: [10.7554/eLife.61312](https://doi.org/10.7554/eLife.61312)

30. World Health Organization., (2020). Coronavirus. WHO. <https://www.who.int/health-topics/coronavirus>

7. Anexos

Anexo A

Las técnicas de análisis indirectos se basan en la detección de los anticuerpos específicos que el individuo infectado produce en respuesta a la presencia en su medio interno de los antígenos virales. El diagnóstico directo se reduce pues a la detección de secuencias génicas o de antígenos del virus. Las muestras utilizadas para ello son secreciones respiratorias de los enfermos: muestras nasofaríngeas, orofaríngeas, aspirado endotraqueal, broncoaspirado y lavado broncoalveola.



Diagnóstico de laboratorio. A, las técnicas de análisis directo detectan componentes del virus en la muestra del enfermo. La RT-PCR permite detectar secuencias específicas del genoma viral; los inmunoensayos identifican antígenos del virus, para lo que se usan anticuerpos monoclonales específicos. B, las técnicas de análisis indirectos buscan los anticuerpos específicos que el sistema inmune del enfermo produce en respuesta a los antígenos virales. Tomado Ruiz A., *et al*, (2020).