

Cómo detectar SARS-CoV-2 **empleando pruebas de laboratorio**

Jazmín De la Luz-Armendáriz,^{1,2} Luis Gómez-Núñez,² Catalina Tufiño-Loza,²
Manuel Zapata-Moreno, María Concepción Chávez-Flores,
Ricardo Barba-Hernández y José Francisco Rivera-Benítez^{2*}

1 Departamento de Medicina y Zootecnia de Rumiantes, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

2 Laboratorio de Virología, Centro Nacional de Investigaciones Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ciudad de México, México. *Correo electrónico: rivera.francisco@inifap.gob.mx

Fecha de recepción: 14 de mayo de 2020

Fecha de aceptación: 6 de junio de 2020

SARS-CoV-2, el virus que causa la COVID-19

A finales del año 2019, se manifestó en la provincia de Wuhan, China, una nueva enfermedad respiratoria causada por un coronavirus emergente, el cual fue conocido inicialmente como 2019-nCoV. El reporte oficial a la Organización Mundial de la Salud (OMS) se realizó el 31 de diciembre de 2019.

Posteriormente, al incrementarse los casos de personas contagiadas, se generó gran interés en la comunidad médico-científica, debido a que se trataba de una enfermedad con un alto potencial de diseminación, extendiéndose rápidamente en China y diferentes partes del mundo, lo que desencadenó una pandemia.

Así, el 11 de febrero, la OMS nombró a la enfermedad provocada por el 2019-nCoV como COVID-19 (por su acrónimo en inglés, **Coronavirus Disease-2019**) (OMS, 2020). Posteriormente, el Comité Internacional de Taxonomía Viral (ICTV), en particular el grupo de estudio de coronavirus, denominó al agente etiológico como SARS-CoV-2 (por sus siglas en inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2*), esto por su gran parecido genético con el SARS-CoV, surgido en 2002 (CSG-ICTV, 2020). En México se confirmó el primer caso el 8 de febrero de 2020 y para el 11 de marzo del mismo año la OMS declaró la pandemia mundial.

Así, al agente infeccioso que causa el padecimiento se le conoce como SARS-CoV-2 y a la enfermedad misma, COVID-19. En este artículo describiremos la importancia del laboratorio

de diagnóstico para detectar al agente que causa la enfermedad –es decir, el SARS-CoV-2– y las pruebas para identificar la **respuesta inmune humoral*** de los pacientes derivada de la exposición al virus.

Pero, ¿qué es el SARS-CoV-2?, lo primero que debemos entender es que se trata de un virus, el cual está integrado por tres compuestos principales: proteínas, lípidos y material genético de tipo ácido ribonucleico (**ARN***). Como todos los virus, este agente infeccioso requiere infectar una célula para poder replicarse, dando como resultado la producción de partículas virales con la capacidad de contagiar células vecinas sanas, ocasionando daño en tejidos y órganos. Un individuo enfermo puede excretar partículas virales hacia el medio ambiente, lo que representa un riesgo potencial para quienes no han estado expuestos al SARS-CoV-2.

La forma de disminuir la propagación es evitando el contacto entre personas confirmadas como positivas a la infección viral y el resto de la población aparentemente sana. Sin embargo, se ha advertido que no todas las personas con SARS-CoV-2 presentan los síntomas comúnmente relacionados con la enfermedad. Estos individuos, denominados asintomáticos, suelen excretar el virus al hablar, toser o estornudar, por esto, la Secretaría de Salud en México estableció la Jornada de Nacional de Sana Distancia (del 23 de marzo al 30 de mayo de 2020), a fin de promover el distanciamiento social como una estrategia para reducir el número de contagios y evitar la saturación de los servicios médicos.

El SARS-CoV-2, al ser un agente viral emergente (o anteriormente desconocido), no puede ser tratado con ninguno de los tipos de medicamento antivirales disponibles actualmente, no obstante, se han empleado antibióticos para reducir infecciones secundarias (generalmente bacterianas) y otros medicamentos para disminuir los síntomas asociados con la infección por el virus. Actualmente se realizan ensayos con diferentes fármacos con propiedades antivirales (al menos 138 en fases clínicas). De la misma forma, otra de las

estrategias que pueden coadyuvar a disminuir el riesgo de enfermarse es el empleo de vacunas, las cuales se encuentran en una fase avanzada de desarrollo y evaluación (16 con resultados preliminares en humanos), principalmente en China y Europa (BioRender, 2020).

Pero para determinar si estamos infectados con el SARS-CoV-2, **¿qué debemos hacer?** Es importante saber que al periodo comprendido desde que el virus infecta a una persona hasta que se observan los primeros síntomas se le conoce como **periodo de incubación**, el cual puede durar de dos a siete días; esta etapa indica el intervalo de tiempo desde que se tuvo contacto con la fuente de transmisión (individuo enfermo, confirmado como positivo o asintomático positivo), hasta la manifestación del primer síntoma. El tiempo de recuperación estimado es de 14 días, en este lapso deberán realizarse pruebas de laboratorio que confirmen que el paciente ya no es positivo a la presencia del virus (Guan *et al.*, 2020).

El curso clínico de alguien afectado por el SARS-CoV-2 inicia con síntomas de fatiga, fiebre intermitente de duración prolongada, dolor muscular, tos seca y respiraciones cortas, lo que puede resolverse favorablemente con un diagnóstico oportuno para su manejo. Un escenario posible puede ser que, al progresar negativamente, se genere dificultad respiratoria y tos productiva, llegando a neumonía y con ello, a la admisión hospitalaria, hasta requerir la utilización de ventiladores mecánicos. Los signos gastrointestinales como náuseas, vómito y diarrea son poco comunes. Una proporción mayor a 50% se puede presentar como individuos infectados completamente asintomáticos (Sharma, Agarwal, Gupta, Somendra & Saxena, 2020).

De acuerdo con la identificación de estos síntomas, se deberá consultar al médico especialista para la confirmación clínica (el médico o las autoridades sanitarias, con base en el diagnóstico diferencial, determinarán si se es candidato para realizarse una prueba que conduzca a confirmar SARS-CoV-2). Para determinar un caso como positivo es necesario contar con el diagnóstico de

laboratorio, que puede ser de tipo molecular o serológico. Actualmente, el primero es el más utilizado a nivel mundial y nacional, consiste en la reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa reversa en tiempo real (**RT-PCR tr***), la cual nos permite, incluso, cuantificar la **carga viral***. El **diagnóstico serológico*** más empleado es el ensayo inmunoenzimático (**ELISA***), que detecta **anticuerpos*** generados por las personas infectadas con el SARS-CoV-2. También existen pruebas de diagnóstico conocidas como “pruebas rápidas”, las cuales se llevan a cabo con mínimos requerimientos en cuanto a equipo y reactivos, por lo que se consideran económicas y la obtención de resultados se logra en un corto tiempo. El fundamento de estas pruebas se basa en el reconocimiento de proteínas virales o anticuerpos producidos por los individuos infectados, pero aún no han sido autorizadas en México. Es importante destacar que los resultados de las pruebas rápidas sólo pueden ser interpretados por especialistas y que los casos positivos deben ser confirmados por estudios de laboratorio. Entre estas pruebas rápidas destacan la **quimioluminiscencia*** y la **cromatografía en fase sólida*** (Loeffelholz & Tang, 2020).

Pruebas de laboratorio, ¿cuáles?, ¿con qué muestras y en qué momento realizarlas?

El diagnóstico oportuno ha permitido identificar a personas contagiadas con SARS-CoV-2. Derivado del resultado se ha recomendado establecer medidas de prevención, como el distanciamiento social voluntario con el resto de la población considerada como susceptible, lo que ha traído como consecuencia una reducción en la incidencia de casos. El éxito en el diagnóstico de laboratorio dependerá, en gran medida, de tres factores principales: el tipo de muestra y su conservación, el momento en que se realiza la colecta y la prueba empleada en el diagnóstico.

Pruebas de diagnóstico para detectar el SARS-CoV-2

Las muestras

La colecta de muestras debe llevarse a cabo en un lugar aislado y limpio, por personal capacitado, que debe contar con las medidas

de protección necesarias para evitar la transmisión del virus por contacto directo y/o vía aérea. Dentro de estas medidas se encuentran el lavado de manos con jabón antes y después de la toma de muestras, aplicación de desinfectantes, uso de bata, cubrebocas, lentes protectores o caretas y guantes (Figura 1A) (OPS-OMS, 2020).

Para el diagnóstico molecular del SARS-CoV-2 se han descrito como principales muestras las secreciones colectadas con un hisopado nasofaríngeo, el cual debe ser tomado inclinando la cabeza del paciente hacia atrás e insertando un hisopo largo por la fosa nasal de forma profunda, al retirarse el hisopo debe girarse lentamente (Figura 1B). Una vez obtenida la muestra, el hisopo se debe colocar en tubos con medio de mantenimiento viral o solución salina estéril. La colecta de muestra tiende a ser un procedimiento que causa ligeras molestias, sin embargo, no causa daño posterior.

Recientes investigaciones han descrito que otras muestras, tales como hisopado **orofaríngeo***, heces, saliva, **lavado broncoalveolar*** y **biopsias*** de órganos respiratorios, pueden ser empleadas para el diagnóstico (Wehrhahn *et al.*, 2020; OPS-OMS, 2020). El mantenimiento de las muestras se basa en el tiempo que transcurre entre la colecta y el envío al laboratorio de diagnóstico, por lo que necesariamente deben conservarse en refrigeración (4-8 °C), si serán enviadas dentro de las primeras seis horas; si se remiten de seis a 72 horas después, la muestra se debe congelar (-20 °C) y la ultracongelación (-70 °C) se emplea en aquellas muestras que serán enviadas después de las 72 horas y/o para ser mantenidas durante un periodo prolongado (OPS-OMS, 2020).

El momento adecuado

La colecta de muestra y su posterior análisis en el laboratorio deberá realizarse de acuerdo con el desarrollo de los síntomas. Se ha observado que las muestras colectadas desde el primer día y hasta los siete de haber comenzado la enfermedad tienen alta posibilidad de resultar positivas. Sin embargo, con el transcurso del

tiempo la probabilidad tiende a disminuir (aproximadamente a las tres semanas del inicio de la enfermedad). En casos extraordinarios se han encontrado resultados positivos hasta las seis semanas. El tipo de muestra también afectará o beneficiará la detección del ARN viral (Wang *et al.*, 2020); se ha identificado que las muestras de hisopo nasal y nasofaríngeo aportan hasta un rango de 30-65% con resultados verdaderos positivos. Las muestras de esputo o expectoraciones, 72%. La que permite un mejor diagnóstico es el lavado broncoalveolar (93%), pero sólo puede ser colectada por personal altamente especializado y por lo general cuando el paciente se encuentra hospitalizado. En la Figura 2 se indica, de acuerdo con el periodo clínico, la muestra requerida y la prueba (molecular y serológica) adecuada a llevar a cabo.

Las pruebas

La prueba empleada más frecuentemente es la RT-PCR en tiempo real, de la cual se han descrito dos ensayos principales (la prueba de Berlín y la del Centro para el Control de Enfermedades [CDC] de Estados Unidos); posteriormente, laboratorios comerciales han puesto a disposición paquetes de fácil implementación, lo cual beneficia a los laboratorios para generar resultados de forma más rápida.

El listado de pruebas moleculares útiles para el diagnóstico de SARS-CoV2 se encuentra publicado en la página web del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE, 2020).³

Reacción en cadena de la Polimerasa transcriptasa reversa en tiempo real (RT-PCR)

Estas pruebas de diagnóstico molecular se basan en la detección de un fragmento del **genoma*** del SARS-CoV-2, lo cual confirmaría la infección en una persona. Cabe mencionar que, bajo condiciones

³ Disponible en <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/instituto-de-diagnostico-y-referencia-epidemiologicos-indre>

naturales y sin previa exposición, nadie tiene el genoma del SARS-CoV-2 en el organismo.

El objetivo de esta prueba es realizar múltiples copias de una porción específica del **ADN*** empleando diferentes temperaturas durante su procesamiento. Como se mencionó anteriormente, el SARS-CoV-2 es un virus con genoma ARN que requiere un paso previo de transcripción reversa que consiste en la formación del ADN complementario (**ADNc***) a partir del ARN viral; en este momento el ADNc participa como molde para dar inicio al proceso de amplificación. Si existe amplificación del material genético se podrá observar en el equipo de laboratorio una curva que aumenta de forma exponencial conforme avanza el proceso. En las muestras negativas esta curva no se presentará (Figura. 3). La interpretación de la prueba la efectúa el personal capacitado en el laboratorio, que brinda al médico la oportunidad de aplicar el resultado en el seguimiento del paciente. Una variante de esta prueba es la RT-PCR punto final, la cual indica si la muestra es positiva o negativa en términos cualitativos.

Posterior a obtener los resultados se puede realizar la secuenciación parcial o total del genoma viral y llevar a cabo análisis bioinformáticos; ambos son fundamentales para comprender el origen, la epidemiología molecular, desarrollar modelos evolutivos y **análisis filogenéticos***, con la finalidad de estimar la variabilidad del SARS-CoV-2 que circula en diferentes partes del mundo (Benvenuto *et al.*, 2020). Un ejemplo de la importancia de estas herramientas es que mediante la secuenciación del genoma se identificó un probable origen del SARS-CoV-2, debido a que presentaba 96% de similitud con el genoma de un coronavirus proveniente del murciélago (BatCoV-RatG13) (Zhou *et al.*, 2020). Algunos coronavirus, como el SARS-CoV en 2002 y MERS-CoV, han requerido de **hospederos*** intermediarios antes de dar el salto interespecie e infectar al humano. En otros estudios basados en la secuencia que codifica para la proteína S del SARS-CoV-2, se mostró 97% de similitud con un coronavirus hallado

en un mamífero nombrado pangolín o también conocido como oso hormiguero escamoso, lo cual sugiere que esta especie puede ser un posible hospedero natural del SARS-CoV-2, aunque faltan más investigaciones en el tema para confirmar el origen (Zhang *et al.*, 2020).

Aislamiento viral

El aislamiento viral del SARS-CoV-2 se realiza a partir de las muestras positivas de pacientes confirmados, éstas pueden contener partículas virales infecciosas con capacidad de contagiar células en cultivos. Es un procedimiento que se realiza en laboratorio y que permite la infección viral en cultivos celulares (VERO E6) para evidenciar la capacidad infectante del virus por observación directa del **efecto citopático***, que –en el caso de este virus– es la formación de células gigantes multinucleadas y **lisis celular***. Este tipo de pruebas contribuye a obtener lotes virales para la estandarización de otras pruebas de diagnóstico y una posible vacuna (Colavita *et al.*, 2020). La utilización de estos exámenes es con fines de investigación, desarrollo de mayores herramientas para implementar medidas de control y para obtener cepas candidatas a vacunas.

Pruebas de laboratorio para detectar la respuesta inmune contra el SARS-CoV-2

Se ha descrito que los pacientes infectados con SARS-CoV-2 producen dos isotipos de inmunoglobulinas (anticuerpos), principalmente inmonoglobulina G (IgG) e inmunoglobulina M (IgM), tal como sucede ante una infección viral aguda. Los anticuerpos IgM se generan en la respuesta primaria, cuando el sistema inmune reconoce las proteínas virales; la reacción de este anticuerpo se mantiene durante aproximadamente cinco semanas. Los IgG se encuentran dentro de la respuesta secundaria, la cual presenta una mayor duración y se ha caracterizado que su presencia es clave para la protección frente al virus (Astuti & Ysrafil, 2020; Li, Geng, Peng, Meng & Lu, 2020), por lo que contar con pruebas serológicas permite distinguir las diferentes etapas dentro de la infección en las que se encuentran los pacientes con SARS-CoV-2 y realizar estudios epidemiológicos que sirven en la toma de decisiones.

Las muestras

La toma de muestras para el diagnóstico serológico debe llevarse a cabo con las medidas de protección previamente descritas. En este tipo de diagnóstico es necesario contar con el suero obtenido de muestras sanguíneas. Dicha muestra se consigue por punción en vía venosa periférica, de preferencia en el antebrazo (Figura 1C), la cual debe ser identificada y mantenerse en refrigeración (4 °C) máximo 12 horas hasta su procesamiento, es importante destacar que por ningún motivo se debe congelar (OPS-OMS, 2020; Krüttgen *et al.*, 2020).

Momento adecuado

El diagnóstico serológico tiene gran importancia en pacientes que desarrollaron enfermedad leve a moderada y para reconocer la inmunidad poblacional (también descrita como inmunidad de rebaño), lo que permitirá saber qué tan diseminada fue la pandemia en la población y ubicar a individuos que tengan protección (Sethuraman, Sundararaj & Akihide, 2020). El momento adecuado para coleccionar muestras de suero sanguíneo para el análisis de anticuerpos puede ser a los cuatro días (IgM) y a las dos semanas (IgG) de haber comenzado los cuadros clínicos, los picos más altos podrán observarse en la tercera y cuarta semana, respectivamente (Figura 2). La detección de IgM tiende a disminuir a partir de la quinta semana y puede llegar a desaparecer en la séptima. En el caso de la IgG, con los datos disponibles se sabe que puede durar más de dos meses.

Las pruebas

Ensayo inmunoenzimático (ELISA)

El ensayo inmunoenzimático o ELISA consiste en identificar anticuerpos específicos producidos por los pacientes que se han infectado con el virus SARS-CoV-2. Es importante recordar que los enfermos que tienen anticuerpos pudieron o no presentar los síntomas (la identificación de estos anticuerpos puede realizarse a partir de la segunda semana de iniciada la enfermedad o con fines de monitoreo de la población, en cualquier momento). Este análisis revela si el paciente ha tenido contacto con el SARS-CoV-2 y si ha

desarrollado una respuesta inmune humoral detectable. En las investigaciones recientes se ha descrito que la prueba de ELISA para el SARS-CoV-2 reconoce anticuerpos presentes en muestras de suero; la mencionada prueba consiste en la unión **antígeno*-anticuerpo** de los isotipos IgG o IgM a las proteínas virales de nucleocápside (N) y de la espícula (S) del SARS-CoV-2. En la prueba, la placa está recubierta con las proteínas N o S. Los anticuerpos de la muestra se unen con los antígenos adheridos, generando el complejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac); posteriormente se agrega un anticuerpo secundario conjugado para unirse específicamente con el complejo (Ag-Ac). Finalmente, el sustrato provoca una reacción cromogénica (coloración del reactivo) que es medible en un espectrofotómetro (Amanat *et al.*, 2020). La intensidad de la coloración se relaciona con la concentración de anticuerpos IgG e IgM contra la proteína N o S; cuando el valor del color es mayor que el valor del punto de corte, el resultado es positivo e indica que el paciente fue infectado con el virus SARS-CoV-2 y generó anticuerpos (Krüttgen *et al.*, 2020). Actualmente existen cinco pruebas autorizadas por la FDA (Agencia de alimentos y medicamentos de Estados Unidos) para su uso durante la emergencia sanitaria por el SARS COV-2, enlistadas por la Fundación para Nuevos Diagnósticos Innovadores.⁴ En la Figura 4 se observan los pasos a seguir para realizar una prueba de ELISA indirecto.

Seroneutralización

La seroneutralización es una prueba en la que se evidencia la reacción antígeno-anticuerpo y revela la capacidad neutralizante de los anticuerpos presentes en el suero de pacientes infectados con el SARS-CoV-2. En ella se emplean cultivos celulares, un lote viral de SARS-COV-2 previamente titulado y sueros de pacientes sospechosos o confirmados como positivos al SARS-COV-2 (con las pruebas moleculares). Aquellos sueros que contienen anticuerpos específicos (principalmente IgG) en contra del virus neutralizarán

⁴ Consultar www.finddx.org

la actividad infectante de éste sobre el cultivo celular, por lo que no se observará presencia de efecto citopático. En monoestratos que se confrontaron con sueros que no contienen estos anticuerpos se advertirá el efecto citopático característico del SARS-CoV-2, resultando la prueba negativa. La mayor dilución de suero que presenta actividad de inhibición del SARS-CoV-2 se registra como el título de anticuerpo neutralizante. Los títulos de neutralización o títulos de anticuerpos contra SARS-CoV-2 oscilan entre 1:80 y 1:480 (Shen *et al.*, 2020).

Conclusiones

El diagnóstico oportuno en el laboratorio ha permitido ubicar a personas infectadas con SARS-CoV-2, logrando establecer medidas de control que han favorecido la reducción en la incidencia de casos a nivel mundial. Es importante destacar que estos avances se han alcanzado por la implementación de pruebas moleculares que coadyuvan a realizar el diagnóstico confirmatorio, a conocer las características genéticas y determinar el comportamiento evolutivo del virus. De la misma forma, las pruebas serológicas ayudan a conocer la respuesta inmune humoral producida por el paciente, identificando así poblaciones vulnerables a posibles infecciones o re-infecciones con el SARS-CoV-2. Por lo antes mencionado, se enfatiza que ambos tipos de diagnóstico son esenciales para establecer futuras medidas de prevención, control a largo plazo y un mejor manejo de la COVID-19.

Glosario

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ADNc: Ácido desoxirribonucleico complementario.

Análisis filogenético: Estudio que se emplea para conocer el origen y la evolución genética de un agente.

Anticuerpos: Proteínas que reconocen antígenos específicos y se encuentran en el suero sanguíneo.

Antígeno: Partícula que es reconocida como extraña por el sistema inmune.

ARN: Ácido ribonucleico.

Biopsia: Porción de un órgano que se emplea para ser analizada.

Carga viral: Cantidad de partículas virales en una muestra.

Cromatografía en fase sólida: Prueba de diagnóstico rápido que detecta la presencia de anticuerpos específicos en contra de SARS-CoV-2.

Diagnóstico serológico: Pruebas que detectan la presencia de anticuerpos en muestras de suero.

Efecto citopático: Efecto que causan los virus sobre un cultivo celular.

ELISA: Ensayo inmunoenzimático.

Genoma: Secuencia de bases nucleotídicas, las cuales pueden codificar proteínas con funciones biológicas.

Hospedero: Organismo que alberga agentes infecciosos en su interior.

Lavado broncoalveolar: Toma de muestra en aparato respiratorio bajo y se realiza *post mortem*.

Lisis celular: Muerte de las células por efecto viral.

Orofaringeo: Región anatómica formada por la cavidad oral y la faringe.

Quimioluminiscencia: Prueba de diagnóstico rápido que detecta la presencia de anticuerpos específicos, puede haber metodologías útiles para el diagnóstico de la infección con SARS-CoV-2.

Respuesta inmune humoral: Respuesta del sistema inmune que se da por la presencia de un antígeno ante el cual se producen anticuerpos.

RT-PCR tr: Reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa reversa.

Referencias

Amanat, F., Stadlbauer, D., Strohmeier, S., Nguyen, T., Chromikova, V., McMahon M., Moran, T. *et al.* (2020). A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nature Medicine*. doi:10.1038/s41591-020-0913-5.

Astuti, I., & Ysrafil. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14(4), 407-412. doi: 10.1016 / j.dsx.2020.04.020

Benvenuto, D., Giovanetti, M., Ciccozzi, A., Spoto, S., Angeletti, S., & Ciccozzi, M. (2020). The 2019-new coronavirus epidemic: evidence for virus evolution. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 455-459. doi: 10.1002/jmv.25688

- BioRender. (2020).** *COVID-19 vaccine & therapeutics tracker*. Recuperado de www.biorender.com/covid-vaccine-tracker
- CDC. (2020).** Interim Guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens for COVID-19. Recuperado de <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
- Colavita, F., Lapa, D., Carletti, F., Lalle, E., Bordi, L., Marsella, P., Castilletti C. et al. (2020).** SARS-CoV-2 Isolation from ocular secretions of a patient with COVID-19 in Italy with prolonged viral RNA detection. *Annals of Internal Medicine*, 172(9), M20-1176. doi: 10.7326/M20-1176
- Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses (CSG-ICTV). (2020).** The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536-544. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z
- Foundation for Innovative New Diagnostics. (2020).** *SARS-CoV-2 diagnostic pipeline*. Recuperado de: https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/?section=show-all#diag_tab
- Guan, W. J., Ni, Z. Y., Hu, Y., Liang, W. H., Ou, C. Q., He, J. X., Zhong, N. S. et al. (2020).** Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *The New England Journal of Medicine*, 382(18), 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
- InDRE. (2020).** *Listado de pruebas moleculares útiles para el diagnóstico de SARS-CoV-2 durante la contingencia de COVID-19 en México* (actualizado al 7 de mayo de 2020). Recuperado de <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/instituto-de-diagnostico-y-referencia-epidemiologicos-indre>
- Krüttgen, A., Cornelissen, C. G., Dreher, M., Hornef, M., Imöhl, M., & Kleines, M. (2020).** Comparison of four new commercial serologic assays for determination of SARS-CoV-2 IgG. *Journal of Clinical Virology*, 128. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104394
- Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L., & Lu, S. (2020).** Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(2), 102-108. doi: 10.1016/j.jpha.2020.03.001
- Loeffelholz, M. J., & Tang, Y. W. (2020).** Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections-the state of the art. *Emerging Microbes & Infections*, 9, 1-26. doi: 10.1080 / 22221751.2020.1745095

Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (28 de enero de 2020). *Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV)*. Washington, DC: PAHO/WHO. Recuperado de <https://www.paho.org/es/file/58508/download?token=fc-5J8kWB>

Organización Mundial de la Salud (febrero de 2020). *Intervención del Director General de la OMS en la conferencia de prensa sobre el 2019-nCoV del 11 de febrero de 2020*. Recuperado de <https://www.who.int/es/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>

Sethuraman, N., Sundararaj, S. J., & Akihide, R. (2020). Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*, 323(22), 2249-2251. doi:10.1001/jama.2020.8259

Sharma, R., Agarwal, M., Gupta, M., Somendra, S., & Saxena, S. K. (2020). Clinical Characteristics and differential clinical diagnosis of novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). En S. K. Saxena (ed.), *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis and Therapeutics* (pp. 55-70). Singapore: Springer.

Shen, C., Wang, Z., Zhao, F., Yang, Y., Li, J., Yuan, J. & Wei, J. (2020). Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA*, 323(16), 1582-1589. doi:10.1001/jama.2020.4783

Villalobo P. E. (2020). ¿Cómo se detecta si un paciente está infectado por coronavirus? Recuperado de <https://theconversation.com/como-se-detecta-si-un-paciente-esta-infectado-por-coronavirus-134003>

Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G., & Tan, W. (2020). Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA*, 323(18), 1843-1844. doi:10.1001/jama.2020.3786

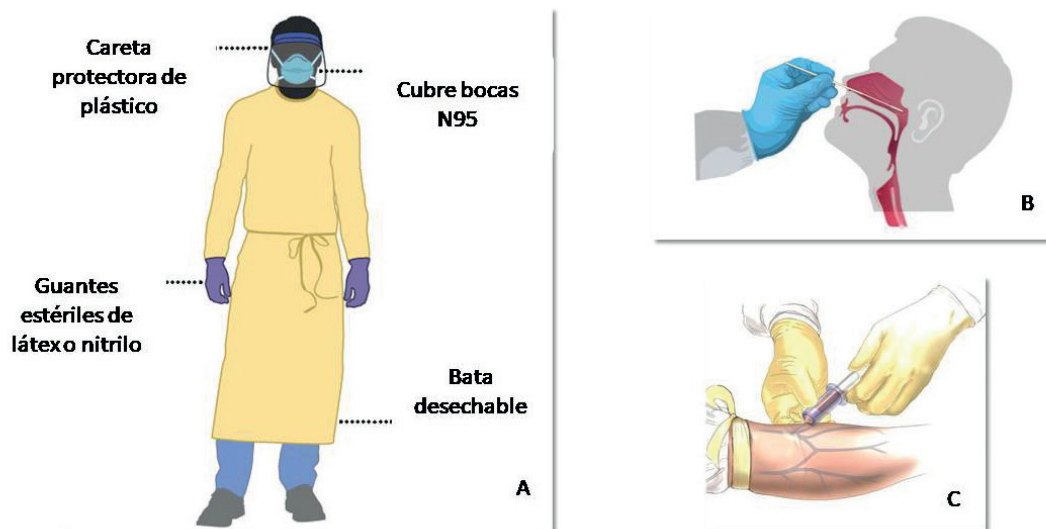
Wehrhahn, M. C., Robson, J., Brown, S., Bursle, E., Byrne, S., New, D. Chong, S., Newcombe, J. P., Sivertsen, T., & Hadlow, N. (2020). Self-collection: an appropriate alternative during the SARS-CoV-2 pandemic. *Journal of Clinical Virology*, 104417. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104417

Winslow, T. (2007). *Circulatory system Medical and Scientific Illustration*. Recuperado de <https://www.teresewinslow.com/#/circulatory/>

Zhang, T., Wu, Q., & Zhang, Z. (2020). Probable pangolin origin of SARS-CoV-2 associated with the COVID-19 outbreak. *Current Biology*, 30(7), 1346-1351. doi: 10.1016/j.cub.2020.03.022

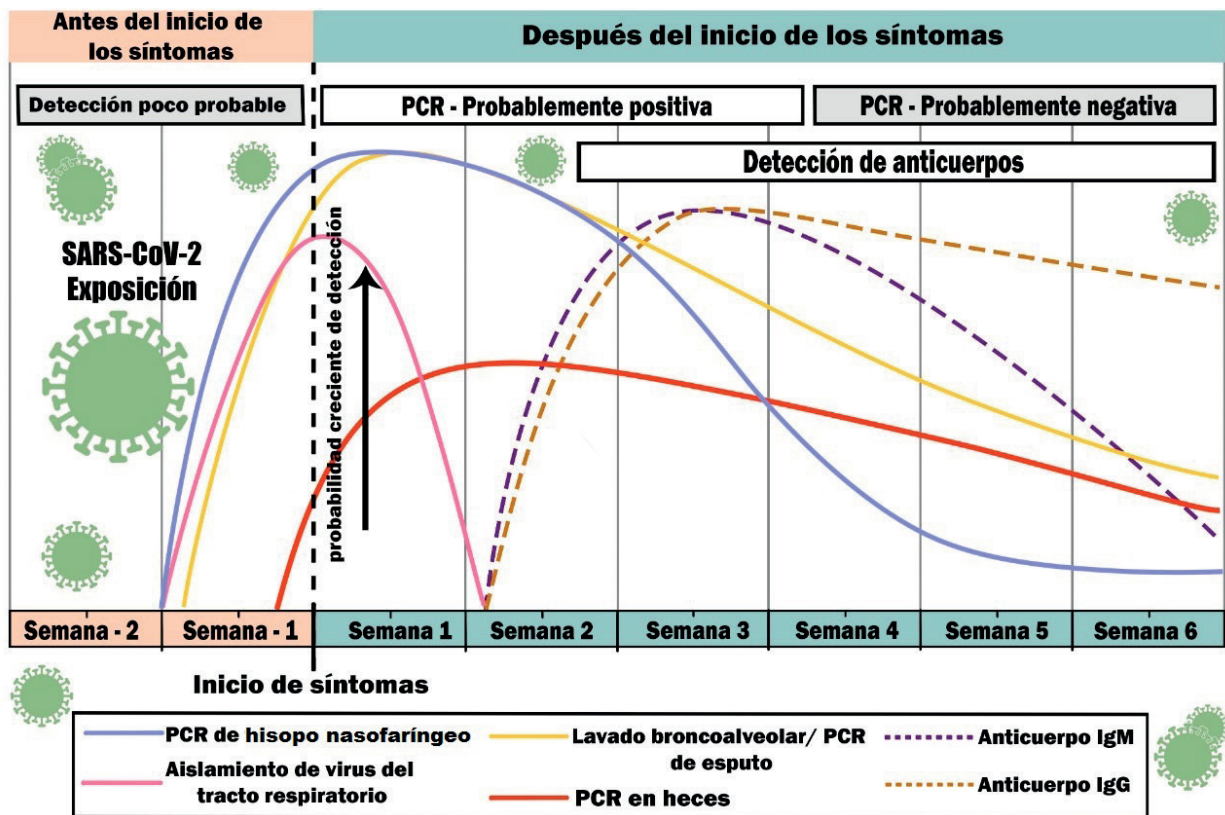
Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., & Chen, H. D. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579 (7798), 270-273. doi: 10.1038 / s41586-020-2012-7

Figura 1.



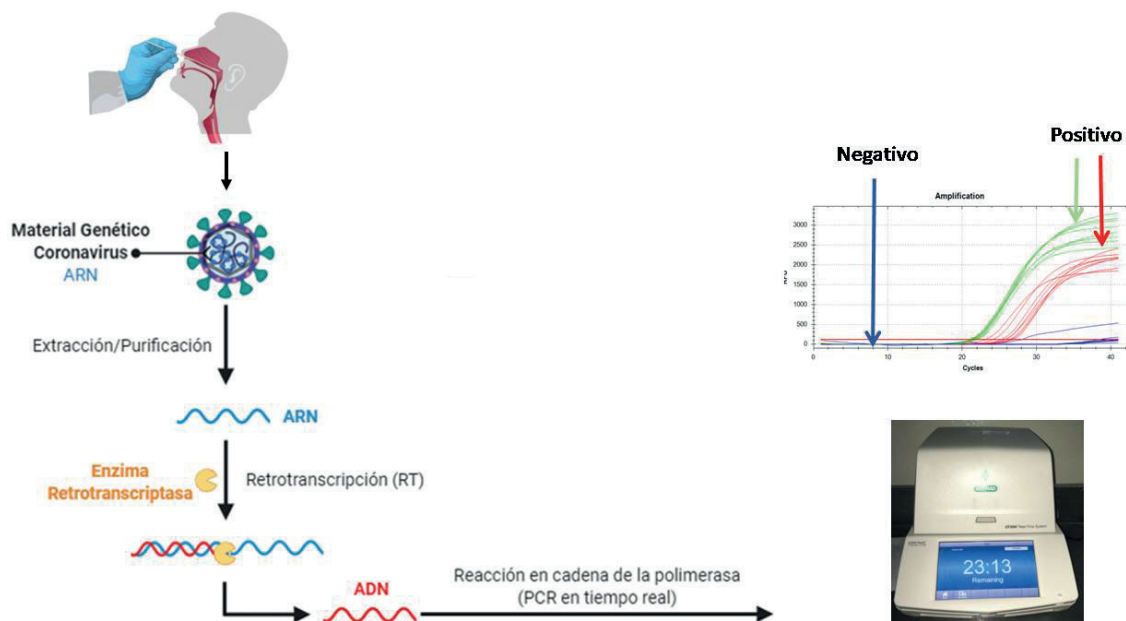
Esquema representativo del muestreo para SARS-CoV-2. **A)** Vestimenta de bioseguridad requerida por el personal que lleva a cabo la toma de muestra del paciente sospechoso de infección viral. **B)** Toma de muestra nasofaríngea para diagnóstico molecular. **C)** Toma de muestra de sangre periférica para diagnóstico serológico. Fuente: Adaptada de CDC, 2020, y Winslow, 2007.

Figura 2. Relación entre diagnóstico clínico y pruebas de laboratorio



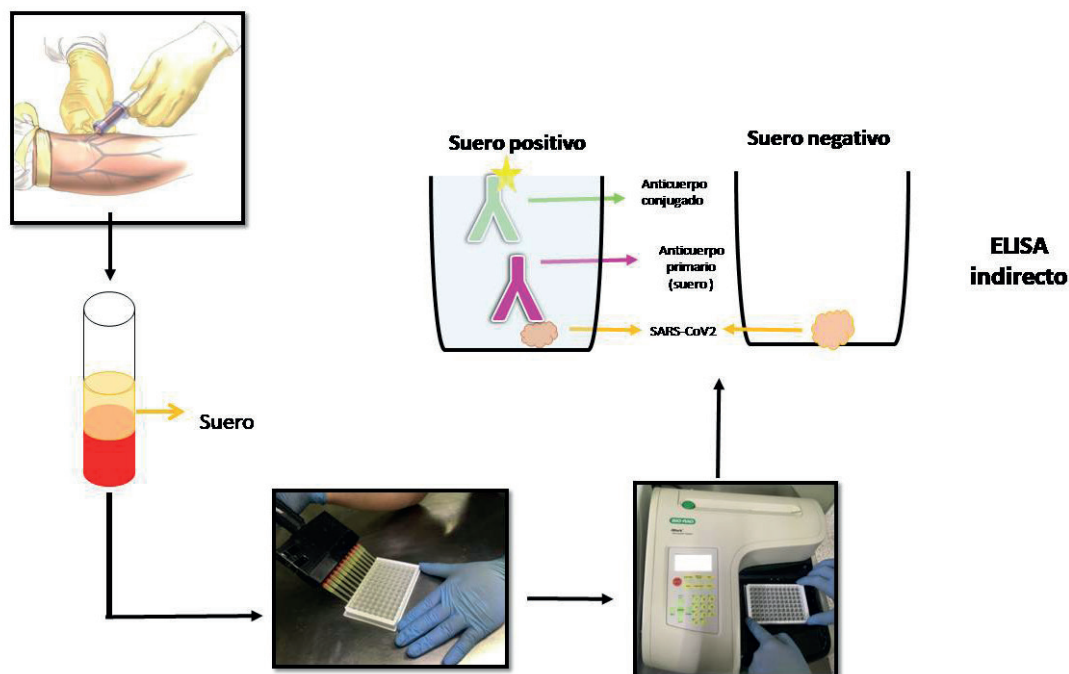
Fuente: Adaptada por Coyotecatl de Sethuraman *et al.*, 2020.

Figura 3. Proceso de diagnóstico molecular por reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa reversa en tiempo real para SARS-CoV-2



Fuente: Adaptada de Villalobo, 2020.

Figura 4. Proceso de diagnóstico serológico con un ELISA indirecto para detectar anticuerpos específicos en pacientes infectados con SARS-CoV-2



Fuente: Elaboración propia